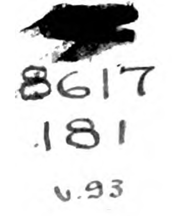


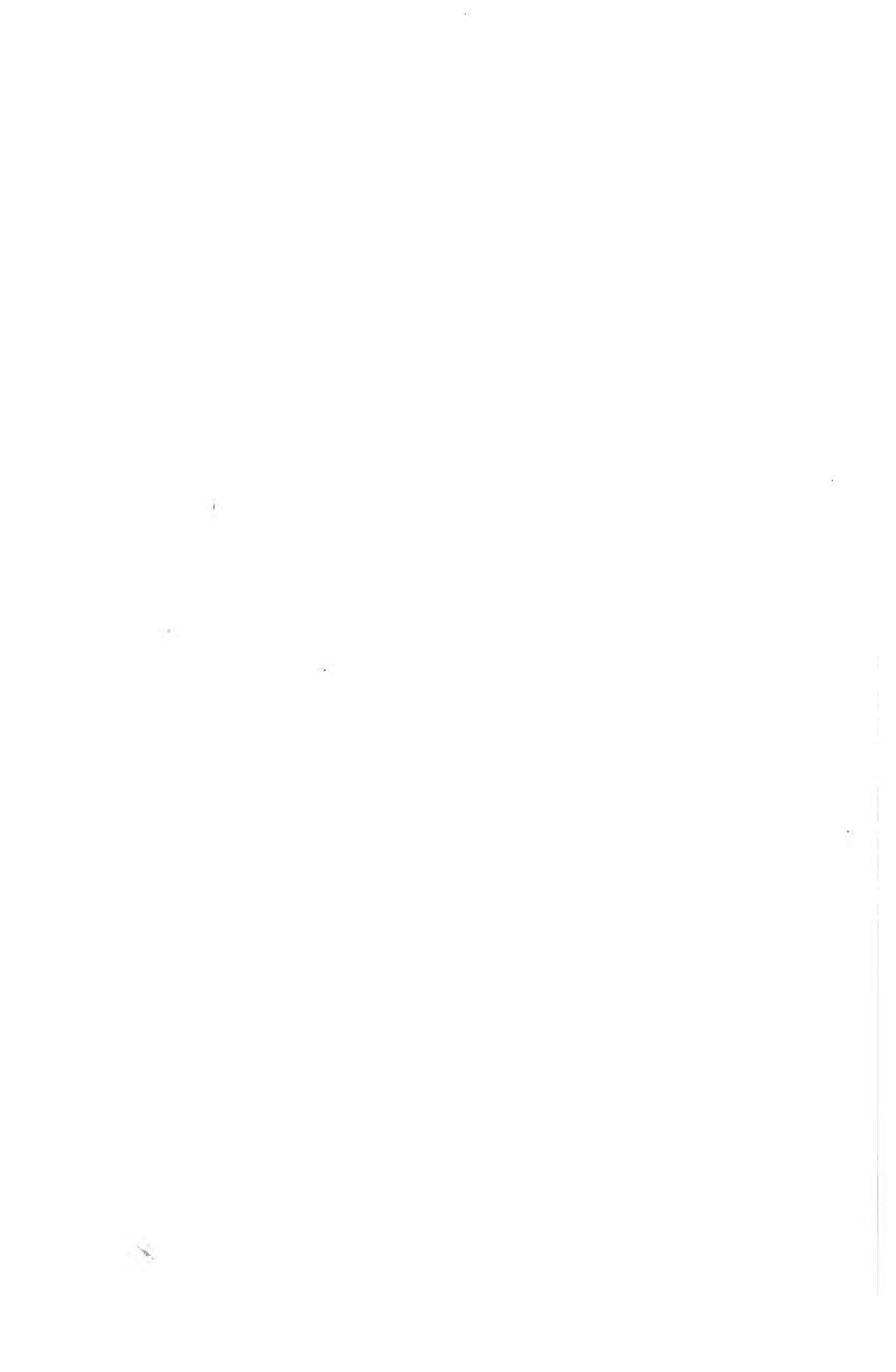



Dei
Sub Numine
Viget









Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Dreiundneunzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1919.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.



Weiteres über qualitativ unzureichende Ernährung.

Von
Aloys Auer.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 21. August 1918.)

Mit 2 Figuren im Text.

Während es früher für ausgemacht galt, daß eine aus gut ausnutzbaren Proteiden, Kohlenhydraten und Salzen bestehende, in genügender Menge gereichte Kost zur dauernden Erhaltung des Lebens ausreicht, hat sich in neuester Zeit die Überzeugung Bahn gebrochen, daß neben den genannten Stoffen noch andere, bisher unbekannte Stoffe (akzessorische Nährstoffe, Ergänzungsstoffe, Vitamine) in der Nahrung vorhanden sein müssen, wenn Leben und Gesundheit nicht Gefahr laufen sollen. Der Ausgangspunkt dieser Erkenntnis waren Erfahrungen über die Ätiologie des Skorbuts und der Beriberi.

Die Schutz- und Heilwirkung frischer Vegetabilien beim menschlichen Skorbut, die ähnliche Wirkung der Reiskleie und der Adzukibohnen bei der Tropenberiberi legten den Gedanken nahe, daß die Entstehung dieser Ernährungskrankheiten auf den Mangel irgendwelcher unbekannter, in frischen Vegetabilien bzw. in Reiskleie und den genannten Bohnen enthaltenen Stoffe zurückzuführen sei. Aber erst als Eijkmann fand, daß sich bei Vögeln durch einseitige Ernährung mit geschliffenem Reis eine der Tropenberiberi ähnliche Krankheit erzeugen läßt, und Axel Holst in ähnlicher Weise eine dem Skorbut und der Barlowschen Krankheit entsprechende Erkrankung durch Ernährung von Meerschweinchen mit trockenem Körnerfutter hervorrufen lehrte, war die Möglichkeit einer experimentellen Verfolgung dieser Frage gegeben. Die zahlreichen einschlägigen Untersuchungen finden

sich bei Schaumann, Cas. Funk, Röhmann angeführt und sind in einer aus neuester Zeit stammenden Darstellung von Hofmeister übersichtlich zusammengefaßt.

Danach hat einmal die Zahl der vermutlich durch Mangel unbekannter Nährstoffe bedingten Krankheiten (Insuffizienzkrankheiten) eine erhebliche Vermehrung erfahren. Funk zählt hierher neben Beriberi und Skorbut auch Pellagra, Rachitis, Osteomalacie, Spasmophilie, Mehlnährschaden und eine Reihe von Tierkrankheiten. Andererseits haben die Bemühungen verschiedener Untersucher, die die physiologische und chemische Charakterisierung der fehlenden Nährstoffe anstrebten, zu bemerkenswerten, wenn auch nicht abschließenden Resultaten geführt.

Nach ihrer physiologischen Wirkung unterscheidet Hofmeister von solchen akzessorischen Nährstoffen zum mindesten drei:

1. einen in der Kleie der Getreidearten, aber auch in animalischen Nahrungsmitteln vorkommenden, relativ thermostabilen, alkaloidischen Stoff (Antineuritin), dem Schutz- und Heilwirkung gegen die experimentelle Beriberi zukommt;

2. einen sehr veränderlichen, thermolabilen Stoff, dessen Anwesenheit den frischen Vegetabilien und der frischen Milch die Schutz- und Heilwirkung gegen Skorbut verleiht;

3. einen lipoidähnlichen, sicher vom Antineuritin verschiedenen, in der Butter und einigen anderen Fetten vorkommenden Stoff, der für die Ernährung junger Mäuse und Ratten völlig unentbehrlich ist (Stepp, Mac Collum, Osborne und Mendel). Es ist fraglich, ob mit diesen drei Stoffen die Zahl der lebenswichtigen, unbekannten Nährstoffe erschöpft ist.

Hofmeister findet die besondere Bedeutung der akzessorischen Nährstoffe in ihrer streng exogenen Natur, d. h. in dem Umstand, daß der Organismus zu ihrem Aufbau schlechterdings unfähig ist. „Fehlt der Nahrung auch nur einer der unentbehrlichen Stoffe ganz, oder ist er darin nicht in einer Menge vorhanden, daß der Organismus ihn aus eigenen Beständen bis zur Höhe des Bedarfs ergänzen kann, so muß es früher oder später zu funktionellen Störungen, zu Erkrankungen kommen.“

Für die Beurteilung eines Nahrungsmittels wäre nach dem Gesagten neben der Kenntnis seines Gehaltes an Eiweiß, Kohlen-

hydraten, Fett und Salzen und seiner Ausnutzbarkeit auch noch die Feststellung erwünscht, ob es die für die betreffende Tierart erforderlichen akzessorischen Nährstoffe in genügender Menge

Gewichtsprotokoll.

Versuch 9.

Frisch gekochte Kartoffeln.

Versuchstag Datum	0 18. V.	2 20.	4 22.	6 24.	8 26.	10 28.	13 31.	15 2. VI.	17 4.	19 7.	22 9.	24 11.	27 14.	29 16.	31 18.
Tier 1 . . .	20,2	19,8	19,9	20,0	20,3	18,9	19,0	18,6	18,5	18,0	18,0	19,1	19,0	18,5	18,2
" 2 . . .	17,1	17,8	17,6	17,2	17,0	16,7	16,5	16,7	16,3	16,3	15,5	16,0	14,9	14,5	13,0
" 3 . . .	23,0	23,5	23,4	23,0	23,1	22,2	21,8	21,4	20,5	21,5	20,0	20,6	20,0 [1])	19,0	19,1
" 4 . . .	17,8	18,0	18,0	17,4	17,0	16,7	16,2	16,5	15,5	15,0	14,0	14,6	14,0 [2])	13,2	12,8
" 5 . . .	17,5	18,5	18,2	18,1	18,0	17,8	17,6	17,5	16,7	16,5	16,4	16,5	16,4	16,2	15,4
Gesamtgewicht	95,6	97,6	97,1	95,7	95,4	92,3	91,1	90,7	87,5	87,3	83,9	86,8	84,3	81,4	78,5
Mittleres Gewicht	19,1	19,5	19,4	19,1	19,1	18,5	18,2	18,1	17,5	17,5	16,8	17,4	16,9	16,3	15,7

Versuchstag Datum	34 21. VI.	36 23.	38 25.	41 28.	43 30.	46 2. VII.	49 5.	51 7.	53 9.	56 12.	58 14.	60 16.	63 19.	65 21.	67 23.
Tier 1 . . .	18,0	18,3	18,0	17,8	18,0	17,8	17,3	17,4	16,8	17,0	16,8	16,4	15,3	15,1	15,0
" 2 . . .	13,2	12,4	12,7	12,8	13,0	12,7	12,8 [3])	12,6	12,2	12,3	11,7	11,1	10,2[4]) †	—	—
" 3 . . .	19,0	18,6	18,8	19,2	20,5	20,0	19,5	19,4	18,5	18,0	18,6	18,1	17,9	17,6	18,0
" 4 . . .	11,8	12,2	11,9	11,5	12,5	11,0	9,5 †	—	—	—	—	—	—	—	—
" 5 . . .	15,3	15,3	14,8	14,0	15,0	13,8	12,0	11,5 †	—	—	—	—	—	—	—
Gesamtgewicht	77,3	76,8	76,2	75,3	79,0	75,3	71,1	—	—	—	—	—	—	—	—
Mittleres Gewicht	15,5	15,4	15,2	15,1	15,8	15,1	14,2	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuchstag Datum	70 26. VII.	72 28.	74 30.	76 2. VIII.	78 4.	80 6.	83 9.	85 11.	87 13.	90 16.	92 18.	94 20.	97 23.	99 25.	101 27.
Tier 1 . . .	14,2	13,8	13,5	13,2[6])	13,5	13,3	13,4	13,0	12,5	12,2	12,7	12,3	12,5	12,3	12,0 †
" 2 . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 3 . . .	18,1	17,8	17,0[5]) †	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1]) Erythem an Kopf und Nacken, allmählich zunehmend.

[2]) Am Bauch seitlich von Anfang an geringe Hautwunde (Biß?), die aber stark an Ausdehnung zugenommen hat; am 14. VI. etwa 2 cm lang; links eine haarlose Stelle; Tier sonst munter.

[3]) Linkes Auge entzündet.

[4]) Sektion ohne Ergebnis.

[5]) Kriechen, Kopf räudig, Parese aller Extremitäten; Sensibilität erhalten.

[6]) Beiderseits Keratomalacie (2. VIII.).

Tabellarische Übersicht.

Protokoll-nummer	Nahrung	Zubereitung der Nahrung	Nummer des Tieres	Ergebnis	Anfangs-gewicht g	End-gewicht g	Bemerkungen
1	Gerste	ungeschält und gemahlen	1	Versuch am 58. Tage abgebrochen	17,5	18,5	Tiere gesund.
			2		16,5	18,8	
			3		16,5	17,2	
			4		21,0	24,0	
			5		17,5	18,1	
2	Gerste	ungeschält und gemahlen	1	Tod am 100. Tage	14,5	11,7	Tiere bis zum 84. Tage anscheinend normal; von da ab Gewichtsabnahme.
			2	„ „ 100. „	15,1	11,5	
			3	„ „ 98. „	16,5	11,0	
			4	„ „ 95. „	18,5	16,0	
			5	„ „ 103. „	15,5	11,0	
3	Hafer	nicht geschält und gemahlen	1	Versuch am 94. Tage abgebrochen	15,0	12,0	Tiere gesund; Gewichtsabnahme annähernd gleichmäßig.
			2		16,3	11,1	
			3		15,8	13,1	
			4		19,5	13,0	
			5	Tod am 57. Tage	17,5	10,0	
4	Hirse	geschält	1	Tod am 145. Tage	18,5	12,0	
			2	„ „ 85. „	13,5	8,0	Am 55. Versuchstage macht das Tier einen kranken Eindruck (akute Augenaffektion).
			3	„ „ 115. „	15,5	10,8	Am 71. Versuchstage beide Augen verklebt.
			4	„ „ 118. „	20,5	12,0	Am 97. Versuchstage rechtes Auge geschwollen und geschlossen; Haarverlust und Rötung am Rücken und Kopf.
			5	„ „ 41. „	18,0	10,4	
5	Buchweizen	mit Schale	1	Versuch am 82. Tage abgebrochen	16,0	16,6	Tiere gesund; nur Tier 2 machte am 35. Tage einen kränklichen Eindruck und verliert an Gewicht. Es erholt sich, ohne jedoch das ursprüngliche Gewicht wieder zu erreichen.
			2		25,0	20,0	
			3		20,5	19,0	
			4		26,5	24,3	
			5	Tod am 54. Tage	15,0	11,8	

6	**Buchweizen**	**ohne Schale**	1	Tod am 34. Tage	19,0	14,8	
			2	„ „ 13. „	18,2	19,2	
			3	„ „ 20. „	18,3	14,8	
			4	Versuch am 94. Tage abgebrochen	20,3	13,2	
			5	Tod am 20. Tage	16,4	14,2	
7	Kartoffeln	roh	1	Tod am 15. Tage	17,8	11,7	
			2	„ „ 15. „	18,5	11,5	
			3	„ „ 13. „	16,8	11,0	
			4	„ „ 11. „	23,5	16,0	
			5	„ „ 18. „	17,8	11,0	
8	Kartoffelflocken		1	Tod am 25. Tage	20,8	15,5	Tiere bis kurz vor dem Tode munter.
			2	„ „ 54. „	17,8	9,5	
			3	„ „ 24. „	14,5	9,4	
			4	„ „ 23. „	13,5	10,0	
			5	„ „ 12. „	17,0	11,5	
9	Kartoffeln	gekocht	1	Tod am 102. Tage	20,2	12,0	Am 77. Versuchstage beiderseits „Keratomalacie".
			2	„ „ 63. „	17,1	10,2	Am 49. Versuchstage linkes Auge entzündet.
			3	„ „ 74. „	23,0	17,0	Am 73. Versuchstage Kopf räudig; Parese, Sensibilität erhalten.
			4	„ „ 49. „	17,8	9,5	Am 28. Versuchstage Hautnekrose an 2 Stellen.
			5	„ „ 51. „	17,5	11,5	
10	Weißbrot	aus feinem Weizenmehl (Kaisermehl)	1	Tod am 29. Tage	13,5	8,0	Am 27. Versuchstage Reitbahnbewegungen, sonst lebhaft; ein Auge geschlossen.
			2	„ „ 38. „	14,7	6,0	Am 27. Versuchstage an der Schwanzspitze eine blutende Stelle; am 35. Versuchstage Kriechen, Kopf nach rechts gesenkt, oft Kreisbahnbewegungen.
			3	„ „ 40. „	15,4	7,3	
			4	„ „ 40. „	15,3	8,0	
			5	„ „ 43. „	15,0	7,0	Am 42. und 43. Versuchstage Kriechen, Reitbahnbewegungen, fällt auf die linke Seite. Rückwärtskriechen.
			6	„ „ 27. „	23,4	15,5	
			7	„ „ 25. „	25,5	17,0	Am 24. Versuchstage sehr schöne Rollbewegungen.
11	Weißbrot	aus feinem Weizenmehl gemahlen	1	Tod am 25. Tage	22,5	14,5	Am 25. Versuchstage Kriechen, Reitbahn- und Rollbewegungen; beim Anfassen zappelige Krampfbewegungen.
			2	„ „ 28. „	15,2	9,5	Am 28. Versuchstage Kriechen, Zappeln, Rollbewegungen; ataktische Bewegungen; gegen Abend zunehmende Lähmung.
			3	„ „ 33. „	23,2	15,3	Am 33. Versuchstage Rückwärtskriechen, Drehbewegungen.
			4	„ „ 23. „	20,1	14,1	Am 23. Versuchstage Reitbahnbewegungen.
			5	„ „ 35. „	18,2	11,0	Am 35. Versuchstage Kriechen, Rückwärts- und Reitbahnbewegungen, kräftig und rasch beweglich.

Tabellarische Übersicht (Fortsetzung).

Protokoll-nummer	Nahrung	Zubereitung der Nahrung	Nummer des Tieres	Ergebnis	Anfangs-gewicht g	End-gewicht g	Bemerkungen
12	Apfel-schnitze	getrocknet	1	Tod am 22. Tage	16,0	8,1	Gewichtsverlust setzt am 1. Tage ein.
			2	„ „ 15. „	15,8	8,0	
			3	„ „ 22. „	17,0	7,8	
			4	Versuch am 22. Tage abgebrochen	17,0	8,9	Am 22. Versuchstage wird Buchweizengrütze zugegeben, worauf vorübergehende Gewichtszunahme beobachtet wird; dann folgt wieder Gewichtsabnahme, und das Tier verendet mit einem Gewicht von 7 g.
			5	Tod am 15. Tage	14,2	8,0	
13	Blutbrot	aus Roggenmehl mit 10% Trockenblut	1	am 53. Tage wurde Versuch abgebrochen, weil Futter aufgebraucht (für 1–5)	20,0	20,3	
			2		22,0	22,3	Am 29. Versuchstage am Rücken Haarverlust; Kratzen.
			3		22,5	24,8	Am 27. Versuchstage Haarausfall, Rötung am Rücken und Bauch.
			4		24,0	24,0	
			5		21,0	18,8	
14	Weißbrot	mit 10% Trockenblut	1	Tod am 21. Tage	20,0	11,2	Am 20. Versuchstage Reitbahn- und Rollbewegungen nach rechts; Parese, feuchte Augen.
			2	„ „ 21. „	15,8	10,0	Am 20. Versuchstage Reitbahnbewegungen; Augen verklebt.
			3	„ „ 28. „	21,7	14,0	Am 28. Versuchstage Reitbahnbewegungen; ataktisches Kriechen.
			4	„ „ 21. „	17,0	11,0	Am 20. Versuchstage Reitbahnbewegungen; Rückwärtslaufen.

enthält. Dies wäre besonders notwendig, wenn die Kost ganz oder vorwiegend aus einem bestimmten Nahrungsmittel wie Reis, Brot, Kartoffeln, Milch usw. besteht. Wenn dieses als solches oder infolge seiner Zubereitung (z. B. in Form von Konserven) nicht die akzessorischen Nährstoffe in genügender Menge enthält, kann es bei andauerndem Genuß zur Insuffizienz kommen. Es haben schon ältere Erfahrungen, auf die namentlich A. Holst aufmerksam gemacht hat, nahegelegt, daß das endemische Auftreten von Ernährungskrankheiten, besonders beriberiähnlicher Art, in früheren Zeiten in Gefängnissen, Irrenhäusern und dergleichen nicht ganz selten war, und auch die letzten Jahre, namentlich aber Erwägungen der Ernährungsmöglichkeiten im Kriege haben die Aufmerksamkeit der Ärzte zunehmend auf diese Frage gelenkt.

Danach erscheint es von praktischen Gesichtspunkten aus geboten, die gebräuchlichen Nahrungsmittel nicht bloß auf ihre chemische Zusammensetzung und ihre Ausnutzbarkeit, sondern auch auf ihre Suffizienz zu untersuchen. Da dies nicht, wenigstens nicht in systematischen Versuchen am Menschen, möglich ist, so empfiehlt es sich, entsprechende Versuchsreihen an in der Art der Ernährung dem Menschen nahestehenden Säugetieren auszuführen.

Reine Pflanzenfresser und Fleischfresser sind danach weniger geeignet. Affen und Schweine können, wo es sich um zahlreiche und langdauernde Versuche handelt, nur ausnahmsweise in Betracht kommen. Daher sind begreiflicherweise einschlägige Versuche in großer Zahl fast nur an Ratten und weißen Mäusen ausgeführt worden.

Nach der von Hofmeister gegebenen Zusammenstellung liegen solche Untersuchungen für nachstehende Nahrungsmittel vor:

Fleisch (Watson, Spriggs, Suzuki, Odake, Shimamura, Schaumann, Roos); Hühnereiweiß und Hühnereier (Schaumann, Suzuki); Milch (Keller, Stepp, Martin und Pettit, Moro, Suzuki); Bohnen (Oseki); Erbsen (Oseki); Gerste (Oseki); Hafer (Oseki); Kartoffeln (Schaumann); Mais (Raubitschek, Lode, Horbaczewski, Suárez, Urbeanu); Reis (Raubitschek, Schaumann, Suzuki und Mitarbeiter);

Roggenbrot (Schaumann, Oseki); Weizenbrot (Stepp, Schaumann, Oseki).

Die nachstehend mitgeteilten Versuchsreihen schließen sich den von Oseki ausgeführten an. Sie hatten zur Aufgabe, die Reihe der untersuchten Nahrungsmittel zu vervollständigen, zum Teil auch die bereits vorliegenden Angaben ähnlicher Richtung nachzuprüfen.

Die Versuchsanordnung war die im hiesigen Institut übliche. Die weißen Mäuse, die ihres überaus regen Stoffwechsels wegen zu solchen Versuchen sehr geeignet sind, wurden in Einzelkäfigen auf Torfstreu gehalten, die häufig gewechselt wurde. Die Art des Futters, von dem die Tiere so viel zu fressen bekamen, als sie überhaupt wollten, ist aus den angeführten Tabellen ersichtlich. Zusätze wurden, außer Wasser, keine gemacht. Mindestens alle 2 bis 3 Tage wurden die Versuchstiere gewogen (siehe angeführtes Beispiel: Gewichtsprotokoll zu Versuch 9). Zu jedem einzelnen Versuch wurden meist 5 Tiere verwendet. Im Anfang der Versuche fraßen alle Tiere die ihnen gereichte Nahrung mit großer Gier, im weiteren Verlauf nahm, wo das Futter insuffizient war, die Freßlust ab, um bei einer großen Anzahl bis zur Nahrungsverweigerung herabzusinken, so daß der Tod dann meist sehr rasch eintrat. In bezug auf weitere Einzelheiten verweise ich auf Osekis Darstellung.

Die vorstehende tabellarische Zusammenstellung gibt einen Überblick über die ausgeführten Versuche. Ich lasse ihr die notwendigen Erläuterungen folgen.

Versuch 1 und 2.

Gerste.

Über die Verwendbarkeit des Gerstenmehls bei weißen Mäusen hat Oseki berichtet; es erwies sich als insuffizient, die zwei Versuchstiere gingen am 19. und 24. Tage ein. In meinen Versuchen mit ungeschälter Gerste gediehen die Tiere in den ersten zwei Monaten vortrefflich. Nach Versuch 1, der am 58. Tage abgebrochen wurde, hätte man ungeschälte Gerste als völlig einwandfreies Futter ansehen können. Versuch 2, der sonst unter ganz gleichen Bedingungen ausgeführt wurde, verlief zunächst ebenso. Zuerst Gewichtszunahme, dann Gleichgewicht bis zum 84. Tage, darauf unerwarteterweise in sämtlichen Versuchen Absinken des Gewichts, bis zwischen dem 96. und 100. Tage der Tod eintrat.

Die ungeschälte Gerste weist sonach gegenüber dem Gerstenmehl eine viel weitergehende Suffizienz auf. Wenn schließlich nach sehr langer Versuchsdauer doch noch Gewichtsabnahme und Tod eintrat, so kann man vermuten, daß diese Wendung durch eine weitgehende Erschöpfung des Organismus an einem lebenswichtigen Stoff bedingt war, der zwar in der ungeschälten Gerste vorhanden ist, aber in zu geringer Menge, um den Bedarf dauernd zu decken. Um was für einen Stoff es sich gehandelt haben kann, ist nicht weiter untersucht. Nach Analogie mit anderen Erfahrungen ist dabei an Kleienbestandteile zu denken. Bemerkt sei ausdrücklich, daß ein Zusatz von Salzen zum Futter nicht gemacht worden war in der Voraussetzung, daß kleiehaltige Zerealien einen genügenden Aschegehalt aufzuweisen pflegen.

Versuch 3.

Hafer.

In Osekis Versuch mit Hafermehl überlebte von 5 Tieren nur eins den 60. Tag, die übrigen gingen vom 33. bis 50. Tage ein. Wie aus meinem Versuch hervorgeht, ist die Ernährung mit ungeschältem, nicht fein gemahlenem, also kleiereicherem Hafer ungleich günstiger. Immerhin steht sie der Gerstenzufuhr nach, wie namentlich aus der bedeutenden Gewichtsabnahme hervorgeht. Eine, wenn auch nur vorübergehende, Zunahme war nicht vorhanden.

Versuch 4.

Hirse.

Die geschälte Hirse steht in ihrer Suffizienz dem Hafer merklich nach. Immerhin zeigten von den 5 Tieren 4 in den ersten 3 Wochen merkliche Gewichtssteigerung. Starke Gewichtsabnahme setzte erst nach dem 30. Tage ein, führte aber nach sehr ungleichen Zeiträumen zum Tode.

Auffällig war die Häufigkeit von Augenerkrankungen, die wohl der von Knapp und Goldschmidt bei insuffizient genährten Ratten beobachteten Keratomalacie bzw. Vorstadien derselben entsprechen.

Versuch 5.

Buchweizen, nicht geschält.

Bei der Mehrzahl der Tiere erweist sich Buchweizen mit Schale als ein ausreichendes Futter. Die vorübergehende Erkrankung eines Tieres hängt offenbar nicht mit der Art der Fütterung zusammen. Ob der ziemlich spät erfolgte Tod eines anderen Tieres darauf zu beziehen ist, ist nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit anzunehmen. Die Tiere 1, 3 und 4 zeigen bis zum Schluß annähernd gleiches Gewicht.

Versuch 6.

Buchweizen, geschält.

Sämtliche Tiere zeigen in den ersten Tagen Gewichtszunahme. Tier 2 verendet schon in diesem Stadium. Die übrigen zeigen vom 12. Tage ab Gewichtsabnahme und gehen mit Ausnahme von Tier 4 bis zum 33. Tage ein. Tier 4 übersteht, trotz bedeutender Gewichtsabnahme, den 90. Tag; das Gewicht bleibt in den letzten 20 Tagen annähernd gleich. Dieses wenig einheitliche Ergebnis, bei dessen Verwertung Tier 2 am besten außer Betracht bleibt, läßt wenigstens das eine erkennen, daß der geschälte Buchweizen dem ungeschälten an Suffizienz stark nachsteht.

Versuch 7, 8 und 9.

Kartoffeln.

Rohe Kartoffeln werden von Mäusen nicht gern verzehrt. Die Gewichtskurve verläuft, wie bei allgemein ungenügender Ernährung, d. h. die Gewichtsabnahme setzt fast vom 1. Tage ab ein und führt frühzeitig ohne auffallende Krankheitssymptome zum Tod.

Frischgekochte Kartoffeln (Versuch 9) werden in ausreichender Menge verzehrt, genügen aber allein nicht zur dauernden Ernährung. Sie stehen an Suffizienzwert der Hirse nahe. Die Überführung in „Kartoffelflocken“ (Versuch 8) setzt ihn noch weiter herab.

Versuch 10 und 11.

Weißbrot.

Die Tiere erhielten aus „Kaisermehl“ unter Salzzusatz gebackenes Weißbrot, und zwar die Krume, in Versuch 10 in Stücken, in Versuch 11 nach dem Trocknen grob gemahlen. Der Versuch verlief, wie ein ähnlicher von Oseki angestellter (Nr. 1, S. 162), nur lebten die Tiere etwas länger (mittlere Lebensdauer 34 Tage). In den ersten zwei Wochen zeigten sie Gewichtszunahme, dann Abnahme bis zum Tod. Auffallend

Tabelle der mittleren Gewichts-

Versuch	Tage															
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
7	18,9	—	—	17,6	—	17,0	—	15,1	—	—	13,5	—	12,1	—	—	—
8	17,3	—	17,2	—	16,9	—	—	—	15,1	—	14,7	—	—	—	—	—
9	19,1	—	19,5	—	19,4	—	19,1	—	19,1	—	18,5	—	—	18,2	—	18,1
10	17,5	—	17,9	—	—	18,1	—	17,6	—	—	—	—	16,4	—	—	—
11	19,8	—	22,2	—	21,5	—	21,5	—	21,2	—	20,8	—	—	19,7	—	18,9
12	16,0	—	13,1	—	—	12,1	—	11,0	—	—	—	—	9,6	—	9,0	—
13	21,9	22,3	—	23,0	—	—	23,1	—	23,5	—	23,0	—	—	23,0	—	23,4
14	18,6	—	19,2	—	18,7	—	18,4	—	—	—	17,9	—	—	16,5	—	15,5

häufig stellten sich einen Tag vor dem Tode die von Suàrez bei Maisfütterung von Mäusen bereits beobachteten Kleinhirnsymptome ein. In drei nicht weiter ausgeführten, sonst durchaus ähnlichen Vergleichsversuchen, in denen nach 26 Tagen, als Gewichtsabnahme eintrat, Weizenkleie zugeführt wurde, blieben weiterer Gewichtsabfall und diese Symptome aus. Da nach anderweitigen Erfahrungen auch Zufütterung von Hefe das Auftreten der Insuffizienzerscheinungen bei Weißbrotfütterung verhindert, darf vermutet werden, daß es der antineuritisch wirkende Stoff der Kleie ist, dessen Abwesenheit die Insuffizienz bedingt, daß es sich sonach um eine der Beriberi entsprechende Erkrankung handelt. Versuch 11 (mittlere Lebensdauer 29 Tage) zeigt das gleiche Verhalten.

Versuch 12.

Apfelschnitze.

Käufliche, getrocknete Apfelschnitze erwiesen sich als sehr ungenügende Nahrung. Die 4 Tiere, bei denen die Apfelfütterung bis zum Tode fortgesetzt wurde, verendeten am 15. und 22. Tage. Der Abfall des Gewichts setzte sofort mit der Fütterung ein. Ob frische Äpfel ein günstigeres Ergebnis haben, wurde nicht untersucht.

Versuch 13.

„Blutbrot“

(ein mit Zusatz von 10 % Trockenblut hergestelltes Roggenbrot).

Wie Oseki gezeigt hat, ist ein aus gewöhnlichem Roggenmehl gebackenes Brot für weiße Mäuse ein gutes Futter. Vorliegender Versuch lehrt, daß daran durch einen nicht unerheblichen Zusatz von trockenem, koaguliertem Rindsblut nichts geändert wird. Das Durchschnittsgewicht bleibt in 53 Tagen auf gleicher Höhe.

Daß dieses günstige Ergebnis nichts mit dem Blutzusatz zu tun hat, geht aus folgendem Versuch hervor.

werte von Versuch 7 bis 14.

Tage																
16	**17**	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	**17,5**	—	17,5	—	—	16,8	—	17,4	—	—	16,9	—	16,3	—	15,7	—
16,1	—	—	14,9	—	14,2	—	13,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	**17,8**	—	16,3	—	—	14,8	—	14,4	—	—	13,4	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	**22,8**	—	—	23,5	—	22,6	—	22,6	—	—	22,2	—	22,0	—	—	—
—	**14,5**	—	—	12,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Versuch 14.

Die Versuchstiere wurden mit einem $10\,^0/_0$ Trockenblut enthaltenden Weißbrot genährt. Sie gingen in annähernd gleicher Zeit zugrunde wie bei reiner Weißbrotfütterung. Sie zeigten vor dem Tode regelmäßig Kleinhirnsymptome. Das koagulierte Blut besitzt sonach keine Schutzwirkung gegen die betreffenden nervösen Störungen; es kann in dieser Hinsicht trotz seines großen Eiweißgehaltes Kleie und Hefe nicht ersetzen.

Einiges Interesse bietet ein Vergleich der Gewichtskurven, wie er sich aus beistehender Figur 1 mit der dazu gehörigen

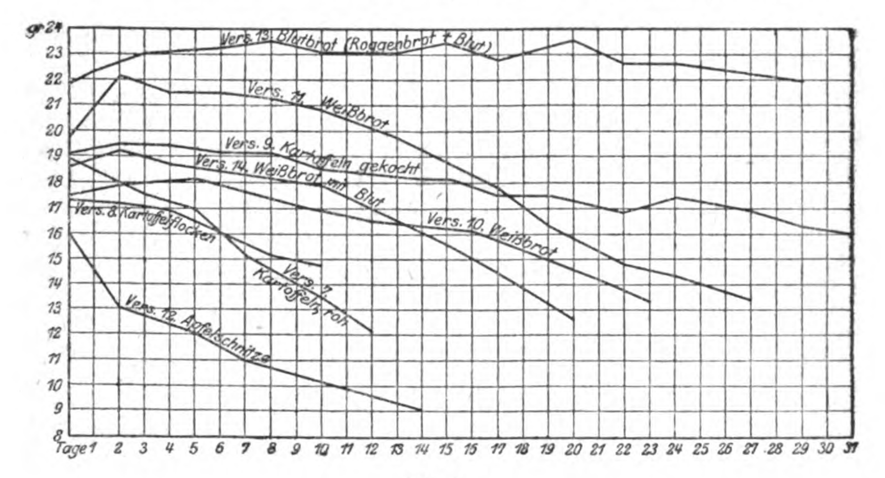


Fig. 1.

Tabelle über die mittleren Gewichtswerte von Versuch 7 bis 14 ergibt. Es sind dabei die mittleren Gewichte der Versuchstiere eingetragen. Zur Darstellung in dieser Form eignet sich, da die einzelnen Tiere ungleich bald eingehen, natürlich nur der Anfangsteil der Versuche. Wie Hofmeister (a. a. O.) durch eine schematische Zeichnung zeigt (vgl. Figur 2), unterscheidet

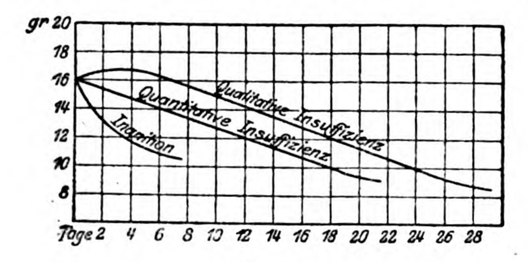


Fig. 2.

sich die Gewichtskurve der Maus bei totaler Inanition und Unterernährung durch ihren Verlauf von der Gewichtskurve bei qualitativer Insuffizienz. In letzterem Fall zeigt das Gewicht in den ersten Tagen keine Abnahme, ja oft eine Zunahme; ein Absinken unter das Anfangsgewicht erfolgt erst später. Bei Inanition und einfacher Unterernährung fällt das Gewicht vom ersten Tage an steil ab.

Diese Verhältnisse liegen auch in meinen Versuchen vor. So nähern sich die Kurven, die bei Fütterung mit Äpfelschnitzen und mit rohen Kartoffeln und Kartoffelflocken erhalten wurden, teils mehr der einfachen Inanitions-, teils mehr der durch qualitative Insuffizienz bedingten Unterernährungskurve. Bei Ernährung mit Weißbrot, gekochten Kartoffeln wurden sehr deutliche Insuffizienzkurven erhalten.

Die vorliegenden Versuche, deren Vervollständigung mir aus äußeren Gründen versagt blieb, bringen einen weiteren Nachweis für die Wichtigkeit der Kleienbestandteile für eine suffiziente Ernährung. Wie das schon aus den vielfachen Untersuchungen über die Entstehung der echten und der experimentellen Beriberi hervorgeht, ist bei den Gramineensamen die Kleberzellenschicht für die Ernährung von besonderer Bedeutung. Dies ist bis jetzt bei Vögeln nachgewiesen für Reis, Weizen, Gerste, Mais. Nach Osekis und den mitgeteilten Erfahrungen gilt dies auch für Mäuse. Wenigstens lebten die mit ungeschälten Zerealien genährten Tiere ungleich länger. Aber auch von anderen als Gramineensamen gilt das gleiche. Die mit geschältem Buchweizen gefütterten Tiere gingen frühzeitig zugrunde, während sie bei ungeschältem Buchweizen in der großen Mehrzahl über 80 Tage gesund blieben. Da der Buchweizensamen auch eine Aleuronschicht unmittelbar unter der Schale beherbergt, ist die Annahme, daß es sich auch hier um eine Schädigung durch Entfernung dieser Schicht handelt, gerechtfertigt. Gegen diesen Zusammenhang könnte allenfalls geltend gemacht werden, daß die Entfernung der Kleberschicht beim Schälen nicht absolut vollständig ist. Indes ist dieser Einwand im Hinblick auf die tausendfältige Erfahrung hinfällig, wonach die Suffizienz des Reises um so mehr leidet, je

vollkommener er „poliert“, d. h. von Schalen- und Aleuronresten befreit ist.

Beachtenswert ist vom praktischen Gesichtspunkt die Beobachtung, daß die Kartoffelflocken, d. h. durch starke Hitze getrocknete Kartoffeln, den einfach gekochten wesentlich nachstehen. Der vielfach gemachte Vorschlag, die Kartoffeln in dieser Form zu konservieren, hat somit seine Bedenken. Die Erfahrung, die man mit Kartoffelpräserven auf Schiffen gemacht hat, sprechen ebenso wie meine Versuche dafür, daß das Dörren, vielleicht sogar schon das scharfe Trocknen der Kartoffeln ihre Suffizienz dauernd schädigt. Daß es sich bei dieser Einbuße um einen Verlust von Eiweiß, Stärke oder Salzen handelt, ist ausgeschlossen. Übrigens hat sich die Verwendung von Kartoffelflocken für die Herstellung von mit Kartoffeln gebackenem Kriegsbrot nicht allgemein eingebürgert.

In neuster Zeit machte sich zunehmend die Einsicht geltend, daß die bei der Herstellung unserer Backwaren eingerissene Vorliebe für kleiefreies, möglichst „feines“, weißes Mehl vom Standpunkt der Ernährung als ein Irrweg anzusehen ist. Ein Brot, das die gesamten ausnützbaren Bestandteile der Brotfrüchte enthielte, ist von Stoklasa direkt als das „Brot der Zukunft“ bezeichnet worden.

Von den in dieser Richtung gemachten technischen Vorschlägen sind namentlich der von Finkler (Finalmehl) und der von Klopfer (Klopfermehl) beachtenswert. In diesen Mehlsorten (Roggen und Weizen) sind sämtliche Kleienbestandteile enthalten, ohne daß das Mehl und das daraus gewonnene Gebäck sich im äußeren Ansehen allzusehr von dem der beliebten weißen Gebäcksorten unterscheidet. In der Tat haben Versuche an Mäusen, die im hiesigen Institut mit „Klopfer-“ und „Finklerbrot“ in der von mir benutzten Art andauernd gefüttert wurden, Vorzüge dieser kleienreichen Brotsorten namentlich des erstgenannten gegenüber den feinen Mehlsorten des Handels ergeben. Da überdies Hindhede die Verwertbarkeit der Kleie durch Ernährungsversuche außer Zweifel gestellt hat, darf gehofft werden, daß auch späterhin — unabhängig vom Zwange des Krieges — die Verwendung des Ganz- oder Vollkornbrotes beibehalten werden wird.

Literatur.

Eijkman, C., Eine beriberiähnliche Krankheit der Hühner. Virchows Archiv **148**, 523, 1897.

Fröhlich, Th., Experimentelle Untersuchungen über den infantilen Skorbut. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 72, 155, 1912.

Funk, C., Die Vitamine. Wiesbaden 1914.

Fürst, V., Weitere Beiträge zur Ätiologie des experimentellen Skorbuts der Meerschweinchen. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. **72**, 121, 1912.

Goldschmidt, M., Experimenteller Beitrag zur Ätiologie der Keratomalacie. Arch. f. Ophthalmol. **90**, 354, 1915.

Hindhede, M., Verdaulichkeit der Kleie. Skandin. Arch. f. Physiol. **33**, 59, 1915.

Hofmeister, F., Über qualitativ unzureichende Ernährung, I und II. Ergebn. d. Physiol., herausg. von Asher und Spiro, XVI. Jahrg., 1918.

Derselbe, Über die Verwendung von Schlachtblut zur menschlichen Ernährung. Münch. med. Wochenschr. **1915**, 1105.

Holst, A., und Th. Fröhlich, Über experimentellen Skorbut Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 72, 1, 1912.

Knapp, P., Experimenteller Beitrag zur Ernährung von Ratten mit künstlicher Nahrung im Zusammenhang von Ernährungsstörungen mit Erkrankung der Conjunctiva. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **5**, 147, 1908.

Mitteilungen der Beriberi-Studienkommission. Tokyo 1911.

Oseki, S., Untersuchungen über qualitativ unzureichende Ernährung. Diese Zeitschr. **65**, 158, 1914.

Röhmann, F., Über künstliche Ernährung und Vitamine. Berlin 1916

Schaumann, H., Ätiologie der Beriberi, I. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene **14**, Beihefte 325, 1910.

Derselbe, Ätiologie der Beriberi, II. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene **18**, Beihefte 6, 1914.

Suzuki, S., T. Shimamura und S. Odake, Über Oryzanin. Biochem. Zeitschr. **43**, 89, 1912.

Stoklasa, J., Entspricht die jetzige Broterzeugung den modernen biochemischen Forschungen? Deutsche med. Wochenschr. 42, 75, 1916.

Derselbe, Das Brot der Zukunft. Jena 1917.

Suàrez, P., Über Maisernährung in Bezug zur Pellagrafrage. Diese Zeitschr. **77**, 17, 1916.

Urbeanu, A., Die Gefahr einer an Kaliumverbindungen zu armen Ernährungsweise und ihre Beziehung zu Ernährungskrankheiten. Berlin-Wien 1916.

Herrn Prof. Dr. Hofmeister möchte ich für sein liebenswürdiges Entgegenkommen meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Studien über Serum-Ausflockung bei Syphilis.

Von

Dr. **W. Georgi**, Assistent am Institut.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung [Prof. H. Sachs] des Kgl. Instituts für experimentelle Therapie zu Frankfurt a. M. [Direktor: Geheimer Medizinalrat Prof. Dr. W. Kolle].)

(Eingegangen am 21. August 1918.)

Bei der Erprobung der neuerdings von Sachs und Georgi[1]) mitgeteilten Methodik zur Serodiagnostik der Syphilis mittels Ausflockung durch cholesterinierte Extrakte ergaben sich eine Reihe von Fragen über die quantitativen Verhältnisse und die Wirkung chemischer und physikalischer Einflüsse auf die Komponenten und ihr Zusammenwirken. Die Beantwortung hatte einerseits methodologisches Interesse für die Verwertbarkeit der Anordnung zum serologischen Luesnachweis, andererseits Bedeutung für das Verständnis des Wesens der Reaktion und ihrer Beziehungen zur Wassermannschen Reaktion. Versuche, die die Bedeutung der Extraktbereitung behandeln und an anderer Stelle mitgeteilt werden[2]), hatten ergeben, daß in der Tat, wie das bereits Sachs und Georgi angegeben hatten, die Cholesterinierung und die langsame Verdünnung der Extrakte neben der Beurteilung des Ergebnisses im Agglutinoskop für die hinreichende Empfindlichkeit der Ausflockung wesentlich sind. Im folgenden möchte ich mir nun auf weitere Einzelheiten, die ich der experimentellen Analyse unterzogen habe, näher einzugehen erlauben[3]).

---

[1]) Medizinische Klinik 1918, Nr. 33.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 27, Heft 6, 1918.

[3]) Die Versuche wurden zum großen Teil von Frl. Gertraudis Klinkhart ausgeführt.

Die Anordnung von Sachs und Georgi besteht darin, daß 1 ccm 10fach mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten, zuvor inaktivierten Patientenserums mit 0,5 ccm der fraktioniert hergestellten 6fachen Verdünnung geeigneten Extraktes gemischt wird. Die Mischungen bleiben 2 Stunden bei 37° und etwa 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Die Beurteilung erfolgt sodann in dem von Kuhn und Woithe angegebenen Agglutinoskop. Zur Kontrolle ist es erforderlich, einerseits bei jedem Serum den Extrakt durch 6fach verdünnten Alkohol (Serumkontrolle), andererseits die Serumverdünnung durch physiologische Kochsalzlösung (Extraktkontrolle) zu ersetzen. Das Ergebnis wird als positiv (+++, ++, +), zweifelhaft (±) oder negativ (—) bezeichnet.

Methodologisch handelt es sich also um das Prinzip der direkten Ausflockung (vgl. hierzu die ältere Literatur in der Arbeit von Sachs und Georgi); die Technik ist daher äußerst einfach. Wesentlich ist dabei die enge Anlehnung an die Bedingungen der Wassermannschen Reaktion (natürliche Extrakte, Mengenverhältnisse, 0,85%ige Kochsalzlösung als Medium, Temperatur), die Cholesterinierung der Extrakte, ihre besondere Verdünnung und die überaus angenehme Ablesung des Ergebnisses im Agglutinoskop. In der Methodik der direkten Ausflockung unterscheidet sich das Verfahren von der zweizeitigen Ausflockungsreaktion („sogenannten „Lipoidbindungsreaktion"), die Meinicke angegeben hat, und in deren besonderer Technik er einen wesentlichen Vorzug vor den direkten Fällungsreaktionen erblickt.

Die für den serologischen Luesnachweis von Sachs und Georgi angegebenen quantitativen Mengenverhältnisse (0,1 ccm Patientenserum + 0,5 ccm 6facher Extraktverdünnung in 1,5 ccm Gesamtvolumen) scheinen vorläufig die günstigsten Bedingungen darzustellen. Bei Verwendung absteigender Serummengen gelingt es, quantitative Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit der einzelnen Sera festzustellen, die nicht selten denjenigen der Reaktionsstärke bei der Wassermannschen Reaktion entsprechen. Folgendes Versuchsbeispiel sei hierfür angeführt.

Absteigende Mengen verschiedener inaktivierter Sera (Volumen 1,0 ccm) werden mit je 0,5 ccm 6facher Extraktverdünnung gemischt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle I.

Wie die Tabelle zeigt, kann man deutliche quantitative Unterschiede feststellen, wie das für die Wassermannsche Reaktion gleichfalls gilt. Bei Steigerung der Serummenge über 0,1 ccm tritt bei schwach reagierenden Serumproben häufig eine Verstärkung der Ausflockung ein. Jedoch ist dabei die Möglichkeit der Interferenz uncharakteristischer Reaktionen zu berücksichtigen, und einer Änderung der quantitativen Ver-

Tabelle I.

Mengen der Sera in ccm	Ausflockung mit Serum					
	a	b	c	d	e	f
0,1	+++	+++	+++	++(+)	+++	—
0,05	+++	++	+++	+	+	—
0,025	+++	++	+(+)	±	—	—
0,015	+++	+	+	—	—	—
0,01	+++	±	—	—	—	—
0	—	—	—	—	—	—

hältnisse in dieser Richtung für die Praxis müßte zunächst eine umfassende Erprobung vorangehen. Es ist möglich, daß man dann unter Umständen auch durch andere Art der Extraktbereitung [Variation der Mengenverhältnisse, Extraktionstemperaturen, Herkunft des Materials (tierische, menschliche Organe)] und durch Wahl anderer Extraktdosen mit den Serummengen steigen und zu günstigeren Bedingungen gelangen kann. Ich glaubte aber zunächst von Variationsmöglichkeiten dieser Art absehen zu sollen und habe mich daher auf die bereits erprobten Mengenverhältnisse beschränkt.

Aber auch bei gleichen quantitativen Bedingungen bleibt, wie die Erfahrungen bei der Wassermannschen Reaktion gezeigt haben, Spielraum zu einer Variation sekundärer Momente, die für das Ergebnis von Bedeutung sein können. Nach den Angaben von Jacobsthal, Guggenheimer, Satta und Donati, Altmann und Zimmern, Thomsen und Boas, Seligmann, Pinkus, v. Wassermann und Lange, Sachs und Altmann u. a. liegt es nahe, dabei zunächst an einen Einfluß verschiedener Temperaturen zu denken. Ich habe daher die Mischungen von Extrakt und Patientenserum vor der Beurteilung bei verschiedenen Temperaturen gehalten, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt.

Je 1 ccm 10facher Serumverdünnung (inaktiv) wurden mit je 0,5 ccm Extraktverdünnung gemischt. Die Gemische bleiben:

A. 2 Stunden im Brutschrank und 18 Stunden bei Zimmertemperatur (gewöhnliche Anordnung),
B. 20 Stunden im Brutschrank,
C. 20 „ bei Zimmertemperatur,
D. 20 „ im Eisschrank.

Das Ergebnis zeigt Tabelle II.

Tabelle II.

Anordnung	Ausflockung von Serum								
	a	b	c	d	e	f	g	h	i
A. (37° + Zimmertemp.)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	±	—
B. (37°)	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
C. (Zimmertemperatur)	+++	+++	++	++	++	++	±	—	—
D. (etwa 8°)	++	+	±	—	—	—	—	—	—

Aus der Tabelle ergibt sich zunächst, daß für die Ausflockung ein Temperaturminimum erforderlich ist. Im Eisschrank — und das hat sich mir in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle gezeigt — ist die Reaktion abgeschwächt oder ganz aufgehoben. Dagegen besteht zwischen Zimmertemperatur, Brutschrank und gewöhnlicher Anordnung (erst Brutschrank und dann Zimmertemperatur) kein wesentlicher Unterschied. Schwankungen kommen aber vor, und bei der Untersuchung eines größeren Materials von Sera begegnet man Proben, die zum Teil bei dieser, zum Teil bei jener Temperatur stärker reagieren. Gelegentlich kann es sogar auch von Vorteil sein, die Mischungen zunächst bei niedriger Temperatur (Eisschrank oder sogar 0°) zu halten und dann Zimmertemperatur (etwa 20°) einwirken zu lassen. Wenn nämlich auch die Ausflockung bei niedriger Temperatur meist abgeschwächt oder aufgehoben ist, so ist der vorangehende Einfluß der Kälte bedeutungslos oder unter Umständen sogar fördernd, wenn die Mischungen nur nachträglich bei höherer Temperatur stehen. Es scheint, daß die Bedingungen in vieler Hinsicht ähnlich liegen wie bei der Wassermannschen Reaktion, indem bei manchen Seris durch niedrige, bei manchen durch höhere Temperaturen eine Begünstigung des Vorgangs erzielt wird. Zur Sichtbarmachung der Ausflockung ist allerdings, wie es scheint, die spätere Einwirkung höherer Temperaturen (mindestens 18 bis 20°) erforderlich. In dieser Hinsicht unterscheidet sich unser Verfahren von den Angaben von Bruck und Hidaka, die gerade in der Kälte eine Ausflockung von Syphilisserum erzielt haben. Offenbar spielen die Besonderheiten der Extrakte, deren Zusammen-

setzung ja für unsere Methode wesentlich ist, hierbei eine ausschlaggebende Rolle.

In praktischer Hinsicht dürfte die Feststellung der Tatsache bemerkenswert sein, daß auch bei alleiniger Einwirkung von Zimmertemperatur die Ergebnisse denjenigen bei zuvorigem Aufenthalt im Brutschrank nicht wesentlich nachstehen. Sollte sich das bestätigen oder es gelingen, durch sonstige Variationen der Methodik die Bedingungen bei Zimmertemperatur optimal zu gestalten, so würde sich für die praktische Ausführung der Methode zum Zwecke der Serodiagnostik der Vorteil ergeben, ohne Brutschrank auszukommen.

Von wesentlichem Einfluß auf das Verhalten des Syphilisserums bei der Wassermannschen Reaktion ist ferner, wie Sachs und Altmann gezeigt haben, die Reaktion des Mediums. Während Alkali die Wassermannsche Reaktion aufhebt, kann die letztere durch Säurezusatz verstärkt werden, oder bei schwacher Reaktionsfähigkeit des Serums überhaupt erst in Erscheinung treten. Die Erprobung der Reaktion des Mediums bei der Ausflockung lag um so näher, als bereits Elias, Porges, Neubauer und Salomon bei der Ausflockung von Serum durch Lecithin, glykocholsaures Natrium usw. gleichfalls eine Begünstigung durch Säure, eine Hemmung durch Alkali festgestellt haben. Tatsächlich haben sich bei unserer Anordnung der Ausflockung die gleichen Verhältnisse ergeben. Die Versuche sind aber vorläufig nicht zahlreich genug, um bestimmte Folgerungen zumal in praktischer Hinsicht zuzulassen. Die Elektrolytempfindlichkeit der Extrakte macht sich auch gegenüber der Säure bemerkbar, wird aber natürlich durch den Serumzusatz innerhalb bestimmter Grenzen larviert. Zwar scheint die Zone der Salzsäurekonzentrationen, die die Ausflockung bei Syphilis begünstigen, ohne bei nichtsyphilitischen Serumproben zur Ausflockung zu führen, deutlich hervorzutreten. Immerhin ist ihre Breite begrenzt, so daß die Gefahr besteht, auch unter nichtsyphilitischen Serumproben solchen zu begegnen, die schon den in Betracht kommenden geringeren Säurekonzentrationen bei Extraktgegenwart durch uncharakteristische Ausflockung unterliegen. Um zu einer praktisch verwertbaren Verstärkung der Empfindlichkeit durch Säurezusatz zu gelangen, würde es daher erst umfassender Erprobung bedürfen. Auch wird man Schwierigkeiten darin ver-

muten können, daß für verschiedene Extrakte die möglichen Grenzen des Säurezusatzes schwanken können.

Durch das Fehlen des in seiner Wirkung zu leicht beeinflußbaren hämolytischen Systems bei der Ausflockung ist Gelegenheit gegeben, durch andere Eingriffe, die aus dem genannten Grunde bei der Wassermannschen Reaktion von vornherein in diesem Maße unmöglich sind, die Bedingungen zu variieren und dadurch praktisch und theoretisch einen näheren Einblick zu erhalten. Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich den Einfluß der erhöhten Kochsalzkonzentration näher untersucht.

Ich bin dabei zunächst in der Weise vorgegangen, daß ich sowohl die Serumverdünnungen, als auch die Extraktverdünnungen in destilliertem Wasser bzw. in Kochsalzlösungen verschiedener Konzentration vornahm. Bei einem Vergleich dieser Varianten muß man natürlich eine Fehlerquelle berücksichtigen. Denn durch die Verdünnung des alkoholischen Extrakts mit verschieden stark konzentrierten Salzlösungen erhält man außer den Unterschieden in der Salzkonzentration auch Unterschiede in der kolloid chemischen Beschaffenheit der Extraktverdünnung, da es bei der Elektrolytempfindlichkeit der Extraktteile für ihr kolloidales Verhalten nicht gleichgültig ist, ob sie bei der Verdünnung in ein elektrolytfreies Medium übergehen oder in ein elektrolythaltiges verschiedener Konzentration. Die Versuchsergebnisse sind daher zunächst nur praktisch verwertbar, dürften aber auch in theoretischer Hinsicht nicht ohne Interesse sein, wie es folgendes Versuchsbeispiel zeigt:

Je 1 ccm 10fach verdünnten, inaktivierten Patientenserums wurden mit je 0,5 ccm 6facher Verdünnung cholesterinierten Rinderherzextrakts gemischt.

Die Verdünnung von Patientenserum und Extrakt erfolgte:

I. mit destilliertem Wasser.
II. „ 0,425 %iger Kochsalzlösung.
III. „ 0,85 %iger „
IV. „ 1,7 %iger „
V. „ 5 %iger „

Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

Medium	Ausflockung der Patientensera									Extrakt-Kontrolle
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	
I. Aq. dest. . .	+++	++ (+)	–	–	–	–	–	–	–	–
II. 0,425 %NaCl	+++	+++	+	±	±	±	±	–	–	–
III. 0,85 % NaCl	+++	+++	++ (+)	+	±	+	+	–	–	–
IV. 1,7 % NaCl	+++	+++	++ (+)	+ (+)	+	+ (+)	+ (+)	+	–	–
V. 5 % NaCl . .	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±	++ (+)
Wass. Reaktion	+	+	+	+	+	schwach +	?	–	–	

Wie die Tabelle zeigt, ist beim Verdünnen mit salzfreiem Wasser (I.) nur bei 2 wassermannpositiven Seris Ausflockung eingetreten. Es handelt sich hier um die erste Phase der zweizeitigen Ausflockungsreaktion von Meinicke. Sie zeigt aber zugleich, daß die von uns verwendeten Extrakte bzw. die vorliegende Anordnung und Verdünnungsart für diesen Zweck viel zu wenig empfindlich sind. Dagegen ergibt sich eine deutliche Steigerung der Empfindlichkeit mit Zunahme des Salzgehaltes. Während schon bei einer Kochsalzkonzentration von 0,425 % (II.) die wassermannpositiven Sera angezeigt werden, erhöht die Steigerung des Salzgehaltes deutlich die Empfindlichkeit, so zwar, daß ein Salzgehalt von 1,7 % stärkere Flockungen ergibt, als der physiologische von 0,85 %. Der Salzgehalt ist also für unsere Methode eine conditio sine qua non, und es wird praktisch zu erproben sein, ob man durch einen höheren Kochsalzgehalt als den üblichen (0,85 %) zu einer Steigerung der Empfindlichkeit gelangen kann, ohne Gefahr zu laufen, die charakteristische Zone zu überschreiten. Reihe V der Tabelle zeigt zugleich, daß, wie nicht anders zu erwarten ist, der Steigerung des Kochsalzgehaltes Grenzen gesetzt sind. Denn bei 5 %iger Kochsalzkonzentration ist bereits die Extraktkontrolle stark ausgefallen (durch die Elektrolytempfindlichkeit der Extraktlipoide). Die Ergebnisse sind also nicht mehr differenziert. Eines Hinweises wert ist der Umstand, daß die spontane Ausflockung in der Extraktkontrolle durch negative Sera (vgl. h, i) gehemmt resp. quantitativ vermindert werden kann (Kolloidschutz durch Eiweißbestandteile).

Die Variation der Salzkonzentration ermöglicht zugleich interessante Einblicke in die Bedeutung des Cholesteringehaltes für die Methode von Sachs und Georgi und in gewisse Beziehungen zu der zweizeitigen Reaktion von Meinicke, wenn man Extrakte benutzt, die an und für sich für die Anordnung von Sachs und Georgi wenig brauchbar sind. Ich möchte mir daher im folgenden ein Versuchsbeispiel anzuführen erlauben, zu dem ein Extrakt des Kaiser-Wilhelm-Instituts für experimentelle Therapie (Berlin-Dahlem) gedient hat.

Je 1 ccm 10fach verdünnten inaktivierten Patientenserums wurde mit je 0,5 ccm 6fach verdünnten

A. nativen K.-W.-I.-Extraktes,

B. cholesterinierten K.-W.-I.-Extraktes (5 ccm Extrakt + 0,2 ccm 1 %iges Cholesterin) gemischt.

Die Verdünnung vom Patientenserum und Extrakt erfolgte:

I. mit destilliertem Wasser,
II. „ 0,425 %iger NaCl-Lösung,
III. „ 0,85 %iger „
IV. „ 1,7 %iger „

Das Ergebnis zeigt Tabelle IV.

Tabelle IV.

Extrakt und Medium	Ausflockung von Patientenserum						Extrakt-kontrolle
	a	b	c	d	e	f	
A. I. Aq. dest. . . .	±	±	++	++	++	++	–
II. 0,425 % NaCl .	–	–	±	–	±	±	–
III. 8,5 % NaCl . .	–	–	–	–	–	–	–
IV. 1,7 % NaCl . .	–	±	–	±	–	–	–
B. I. Aq. dest. . . .	±	–	±	++	++	+ (+)	–
II. 0,425 % NaCl .	+	–	+	±	++	–	–
III. 0,85 % NaCl .	+	±	+	+	–	–	–
IV. 1,7 % NaCl . .	++	+	+ (+)	+	–	±	–
Wass. Reaktion . . .	+	+	+	+	–	–	

Die Tabelle zeigt zunächst, daß der hier benutzte Extrakt im salzfreien Medium (A. I.) sich zur Erzeugung der ersten Phase der Meinickeschen Reaktion besser eignet, als unser Extrakt. Es ist überall mehr oder weniger Flockung eingetreten, die aber unspezifisch ist und auch in quantitativer

Hinsicht der Wassermannschen Reaktion keineswegs entspricht[1]). Mit zunehmender NaCl-Konzentration ist nun, wie ersichtlich, die Ausflockung überall geschwunden (A. III.), und erst bei einem Gehalt von 1,7 °/₀ NaCl scheint eine neue Zone der Flockung sehr geringen Grades aufzutreten.

Teil B. der Tabelle zeigt uns den maßgebenden Einfluß des Cholesterinzusatzes. Im salzfreien Medium (B. I.) ist die Flockung keineswegs verstärkt, eher abgeschwächt. Bei einem Gehalt von 0,85 °/₀ NaCl zeigt sich aber hier die Verschiebung der Verhältnisse im Sinne eines für Lues charakteristischen Verhaltens. Man darf daher vielleicht schließen, daß die Flockung im salzarmen Medium mit dem hier zur Verwendung gelangten Extrakt im wesentlichen eine durch die Extraktlipoide verstärkte Klausnersche Reaktion ist. (Einfache Globulinfällung.) Der physiologische Salzgehalt führt dementsprechend zu einer Aufhebung. Durch den Cholesteringehalt aber tritt augenscheinlich ein neues Moment ein, das, durch geeignete Salzkonzentration begünstigt, zu dem von Sachs und Georgi beschriebenen für Lues charakteristischen Ausflockungstyp führt.

Wenn wir das bisher Mitgeteilte zusammenfassen, so ergeben sich zweifellos eine Reihe von Analogien, die zwischen Wassermannscher Reaktion und Ausflockung bestehen. Zum mindesten sprechen die von uns erhobenen Befunde nicht dagegen, daß es sich bei beiden Methoden um das gleiche Prinzip der Reaktionsfähigkeit des Syphilitikerserums mit Lipoidgemischen von geeigneter kolloidchemischer Beschaffenheit handelt. Allerdings haben schon Sachs und Georgi darauf hingewiesen, und frühere, fehlgeschlagene Versuche, die Wassermannsche Reaktion mit hinreichender Konstanz durch eine Ausflockung zu ersetzen, sprechen in gleichem Sinne, daß durchaus nicht die Komplementinaktivierung beim Zusammenwirken von Extrakt und Syphilisserum von

---

[1]) Es sei hervorgehoben, daß diese Befunde für die Frage der Verwertbarkeit der Reaktion von Meinicke ohne jede Bedeutung sind. Denn einmal ist die Extraktverdünnung nicht nach Vorschrift von Meinicke (ganz langsam) vorgenommen. Dann habe ich aber die 2. Phase nach Meinicke (nachträglicher Zusatz von Kochsalzlösung) nicht ausgeführt, die ja nach Meinicke erst die für Syphilis charakteristische Reaktion bewirkt.

einer Ausflockung begleitet sein muß. Das ist auch dann verständlich, wenn man beiden Reaktionen, der Wassermannschen und der Ausflockung, gleichartige Vorgänge zugrunde legt. Denn die Komplementinaktivierung kann bereits in den ersten Anfangsstadien eines Vorgangs eintreten, der unter Umständen, aber nicht immer, bis zur sichtbaren Präcipitation sich fortsetzt. Tatsächlich entspricht es ja der von Sachs u. a. vertretenen Anschauung über zahlreiche Vorgänge der Komplementinaktivierung, zu denen auch diejenige bei der spezifischen Komplementbindung und bei der Wassermannschen Reaktion gehört, daß eine Globulinveränderung eintritt, die zur Ursache der antikomplementären Wirkung wird (Friedemann), die aber bereits in der ersten Phase der nichtsichtbaren Dispersitätsvergröberung ausreicht, um zum Komplementschwund zu führen. Vielleicht ist sogar, wie Sachs ausgeführt hat und wofür Versuche von Dean u. a. sprechen, dieser bestimmte und begrenzte Grad der Globulinveränderung, gewissermaßen „in statu nascendi“, für den Komplementschwund besonders geeignet. Wenn dem aber so ist, so wird man die Ursache dafür, daß bei unserer Methodik es unter den quantitativen Bedingungen der Wassermannschen Reaktion mit hinreichender Konstanz zur Ausflockung kommt, auf die Besonderheiten des Extrakts zurückführen und dabei dem Cholesteringehalt eine besondere Bedeutung zuschreiben müssen.

Die viel und neuerdings wieder zwischen Meinicke einerseits, Herzfeld und Klinger andererseits erörterte Frage, ob es sich bei dem Verhalten des Syphilitikerserums um besondere, für Syphilis charakteristische Stoffe, oder um eine einfache größere Labilität von Serumbestandteilen handelt, scheint uns in dieser Form nicht von wesentlicher Bedeutung zu sein. Denn bei einer einfachen, größeren Fällbarkeit der Serumeiweißkörper bei Syphilis müßten ja (und darin stimmen wir mit Meinicke überein) die zahlreichen Globulinfällungsmethoden von der Klausnerschen bis zur Bruckschen Reaktion einigermaßen charakteristisches Gepräge aufweisen, was nicht der Fall sein dürfte. Wenn man also, wie Herzfeld und Klinger, von einer größeren Labilität der Eiweißteilchen bei Syphilis spricht und hierin die physikalische Ursache des charakteristischen Verhaltens des Syphilitikerserums erblickt, so muß diese Labilität wohl eine elektive sein und sich gerade an erster Stelle auf die Wirkung der Extraktlipoide beziehen. Ich neige daher, in Übereinstimmung mit Meinicke, Sachs, Nathan u. a., dazu, doch auch besonderen für Syphilis charakteristischen Alterationen eine Rolle zuzuschreiben, mag man ihr Wesen in Veränderungen des Lipoidstoffwechsels

(Sachs) oder in verändertem Eiweißabbau (Herzfeld und Klinger) erblicken. Auf Grund einer derartigen primären Veränderung könnte natürlich das physikalische Verhalten der Serumglobuline bzw. ihrer Verbindungen so verändert werden, daß die schließliche Reaktionsfähigkeit mit den Extraktlipoiden ein physikalischer Vorgang ist. Das würde den Ausführungen von Herzfeld und Klinger entsprechen. Man könnte nur nicht eine einfache, größere Labilität, sondern müßte eine spezifische Labilität gegenüber Lipoidgemischen annehmen, die durch die für Syphilis charakteristischen Abweichungen von der Norm hervorgerufen wird.

Wie dem aber auch sei, jedenfalls muß man bei der Reaktionsfähigkeit des syphilitischen Blutserums ein Zusammenwirken der Extraktlipoide mit Serumbestandteilen annehmen, das entweder unmittelbar oder sekundär zu einer Globulinveränderung im Sinne der verringerten Dispersität führt. Die Dispersitätsverminderung ist auch bei der Wassermannschen Reaktion die Ursache der Komplementinaktivierung und kann nach Sachs sowohl die Eiweißstoffe des Patientenserums als auch diejenigen des Meerschweinchenserums betreffen.

Nach der von Herzfeld und Klinger vertretenen Betrachtungsweise, die die Veränderungen der Fällbarkeit oder der Stabilität der Eiweißkörper im wesentlichen als eine Funktion der den Oberflächen angelagerten Abbauprodukte erscheinen läßt, könnte man, wie das wohl den Vorstellungen von Herzfeld und Klinger entspricht, eine besondere Beschaffenheit der Abbauprodukte im Syphilisserum supponieren. Man könnte dann die Rolle des Extraktes in einer „Bindung" dieser für Syphilis charakteristischen Abbauprodukte suchen, und so würde die Labilisierung der Globuline zunächst im Patientenserum zustande kommen. Durch eine Verteilung der im Meerschweinchenserum enthaltenen Abbauprodukte auf das derart entstandene „Vakuum" könnten aber auch die Globuline des Meerschweinchenserums sekundär betroffen und im Sinne der antikomplementären Funktion alteriert werden (vgl. hierzu Hirschfeld und Klinger). Bei der Ausflockungsmethode wären die Bedingungen für eine sichtbare Präcipitation dadurch günstig, daß das Meerschweinchenserum mit seinem Gehalt an unter Umständen vikariierend fungierenden Abbauprodukten fehlt.

Es haben sich nun bei der Ausflockungsreaktion, wie schon Sachs und Georgi erwähnt haben, bemerkenswerte Unterschiede zwischen dem Verhalten des aktiven und inaktiven Patientenserums ergeben, die einen Parallelismus mit denjenigen bei der Wassermannschen Reaktion vermissen lassen. Während bei der Wassermannschen Reaktion, wie zuerst Sachs und Altmann gezeigt

haben, das aktive Serum im allgemeinen stärker als das inaktive reagiert, dabei allerdings das dem inaktiven Serum zukommende charakteristische Verhalten vermissen läßt, habe ich bei der Ausflockung durch manche Extrakte ziemlich häufig ein umgekehrtes Verhalten gesehen. Nicht selten fehlte bei aktivem Serum überhaupt die Ausflockung, während sie schon nach 5 Minuten langem Erhitzen des Serums auf 56° in Erscheinung trat. Das folgende Versuchsbeispiel zeigt die hier vorliegenden Verhältnisse und gibt zugleich über das Verhalten der Serumkontrollen Aufschluß.

Je 1 ccm 10fach verdünnten Patientenserums werden:
I. im aktiven Zustand,
II. nach $^1/_2$stündiger Erhitzung auf 55° mit
a) 0,5 ccm 6fach verdünnten, cholesterinierten Rinderherzextrakts,
b) 0,5 ccm ($^1/_6$ Alkohol enthaltende) Kochsalzlösung (Serumkontrolle) gemischt und in üblicher Weise behandelt.

Das Ergebnis zeigt Tabelle V.

Tabelle V.

Patientenserum	Ergebnis der Wassermannschen Reaktion (inaktiv)	Ausflockung von Patientenserum			
		I. aktiv		II. inaktiv	
		a) mit Extrakt	b) ohne Extrakt	a) mit Extrakt	b) ohne Extrakt
a	+	++	++	+++	—
b	+	+ (+)	+	+	—
c	+	+	±	+++	—
d	+	+++	—	++ (+)	—
e	+	±	—	++	—
f	+	—	—	+++	—
g	+	—	—	+	—
h	—	+	+	—	—
i	—	±	—	—	—
k	—	—	—	—	—
l	—	—	—	—	—
m	—	—	—	—	—

Wie die Tabelle zeigt, reagieren eine Reihe von wassermannpositiven Seris (e bis g) erst nach dem Inaktivieren positiv. In aktivem Zustande zeigen nur verhältnismäßig wenig Serumproben (a bis d) eine positive Reaktion, und bei vielen von ihnen (a bis c) ist sie nicht beweiskräftig, weil auch in den Serumkontrollen Ausflockung eingetreten ist.

Es erscheint mir auf Grund zahlreicher Versuche durchaus charakteristisch, daß aktives Serum bereits an und für sich beim Verdünnen in physiologischer Kochsalzlösung, bzw. nach Zusatz 6fach in Kochsalzlösung verdünnten Alkohols mehr oder weniger häufig zur Ausflockung neigt, wie das auch Angaben von P. Schmidt entsprechen dürfte[1]. Diese Ausflockungen in den Serumkontrollen mit aktivem Serum sind nicht streng für Lues charakteristisch, sie schwinden beim Inaktivieren des Serums, was auf Grund des allgemeinen Prinzips der Stabilisierung der Serumeiweißstoffe bei diesem Vorgange verständlich ist. Trotz der erhöhten Labilität im aktiven Serum ist aber die Ausflockung, wie wir gesehen haben, bei Lues oft schwächer als im inaktivierten Serum oder fehlt überhaupt ganz. Allerdings muß diese Schlußfolgerung zunächst auf bestimmte, von mir benutzte Extrakte beschränkt werden. Ich möchte nicht unerwähnt lassen, daß ich auch andere Extrakte benutzt habe, die verhältnismäßig häufig mit aktivem Serum stärker oder ebenso stark als mit inaktivem Serum reagierten, dabei aber ein für Syphilis charakteristisches Verhalten nicht aufwiesen. Jedenfalls verdient die Tatsache, daß bestimmte Extrakte zweifellos mit aktivem Serum schwächer reagierten als mit inaktiviertem, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei der Wassermannschen Reaktion in theoretischer Hinsicht Beachtung[2].

---

[1]) Vielleicht entsprechen diese „Eigenfällungen" den Eigenhemmungen bzw. den von Berczeller (vgl. auch R. Müller) beschriebenen Alkoholhemmungen bei der Wassermannschen Reaktion.

[2]) Die Unterschiede zwischen aktivem und inaktivem Serum scheinen am deutlichsten zu sein, wenn das aktive Serum möglichst frisch ist. Bei gelagertem Serum habe ich auch das „aktive" Serum stärker als das inaktivierte reagieren sehen. Ich möchte das darauf zurückführen, daß die Eigenschaften, die im aktiven Serum die Ausflockung hemmen, labiler Natur sind und beim Lagern schwinden. Tatsächlich kann man in der Regel schon nach 5 Minuten langem Erhitzen auf 56° volle Ausflockbarkeit feststellen, so zwar, daß das 5 Minuten lang inaktivierte Serum nicht selten stärker reagiert, als das $^1/_2$stündig erhitzte. Ob eine kürzere Inaktivierungszeit für die Serodiagnostik mittels Ausflockung Vorteile bietet, was ebenso wie bei der Reaktion von Meinicke leicht möglich ist, läßt sich auf Grund des bisher vorliegenden Materials noch nicht entscheiden.

Man braucht aber auch in dieser Hinsicht einen Unterschied im Wesen der Wassermannschen Reaktion und der Ausflockung meines Erachtens nicht zu erblicken. Es scheinen mir vielmehr die geschilderten Unstimmigkeiten doch darauf hinzuweisen, daß der Wassermannschen Reaktion mit aktivem Serum wenigstens teilweise ein anderartiger Vorgang zugrunde liegen könnte, als derjenige mit inaktiviertem. Für die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum genügt es, wie das erst jüngst die interessanten Untersuchungen von Nathan dargetan haben, Globulinveränderungen im Sinne einer erhöhten Fällbarkeit anzunehmen, die unspezifisch und ausgesprochen labil sind. Die außerordentliche Labilität der uncharakteristischen Reaktionsfähigkeit im aktiven Serum haben vor kurzem die Untersuchungen von Stilling in Übereinstimmung mit Noguchi, sowie Thomsen und Boas gezeigt. Die Funktion des Extrakts wäre dann gegenüber dem aktiven Serum als diejenige eines einfachen Globulinfällungsmittels, ähnlich wie salzarmes Medium, verdünnte Salzsäure usw. zu betrachten[1]). Durch die als Folge der Inaktivierung eintretende Stabilisierung des Serums fällt diese Quote der Extraktwirkung im inaktivierten Serum weg oder ist erheblich vermindert. Dem entspricht es, daß sowohl die unspezifische Wassermannsche Reaktion, als auch eine unspezifische Ausflockung mit der Inaktivierung schwindet.

Im aktiven Luesserum aber müßte man zwei Funktionen unterscheiden, die erwähnte unspezifische, als Folge der Globulinveränderung anzusehende Eigenschaft und eine für Syphilis charakteristische Komponente (vgl. hierzu auch Meinicke). Die erstere vermag leicht in eine gröbere Phase der Dispersität übergeführt und unter Umständen sogar ausgeflockt zu werden. Die für Syphilis charakteristische Funktion führt auch zu einer Reaktion mit dem Extrakt, wobei aber das entstehende Reaktionsprodukt im Sinne der von Sachs u. a. vertretenen Betrachtungsweise erst die Ursache der Globulin-

[1]) Man muß daran denken, daß bei den aktiven Seris auch der Alkohol als solcher eine Rolle spielt, was den Angaben von Berczeller über die „Alkoholreaktionen“ bei der Wassermannschen Reaktion entsprechen würde.

veränderung und -Fällung wird[1]). Die schließlich indirekt entstehende Globulinveränderung und Ausflockung würde hierbei aber bei gewissen Extrakten eine weit stärkere sein, als diejenige, die die unspezifische Extraktwirkung zur Folge hat. Bei aktivem Serum findet demnach eine Verteilung des Extrakts auf die unspezifische und die für Syphilis charakteristische „Avidität" statt. Unter Umständen bleibt dabei für die charakteristische Reaktion nicht hinreichend viel Extraktmaterial übrig. Es entsteht also auch eine Globulinveränderung, aber verhältnismäßig geringen Grades, die für die Komplementinaktivierung unter Umständen günstig ist, zur sichtbaren Ausflokkung aber oft nicht ausreicht. Eine charakteristische Differenzierung zwischen aktivem Serum bei Syphilis und bei anderen Krankheiten ist daher nicht möglich, da in beiden Fällen die unspezifische Reaktionsfähigkeit besteht.

Nach der Seruminaktivierung ist die unspezifische Reaktion aufgehoben, der Extrakt kann nur noch mit der charakteristischen Komponente des Luesserums reagieren, und diese Reaktion führt schließlich bei geeigneter Extraktbeschaffenheit zu stärkerer Flockung. Man könnte auch sagen, daß bei der Reaktion des aktiven Serums ein Schutzkolloid beteiligt ist, das der Flockung entgegenwirkt, bzw. der Reaktion mit der für Lues charakteristischen Serumkomponente hinderlich ist[2]), und vielleicht zugleich der Angriffspunkt bei der un-

[1]) Dabei soll nicht ausgeschlossen werden, daß die für Syphilis charakteristische Angriffsstelle im Serum mit den Globulinen in Zusammenhang steht. Die Reaktion mit den Extraktlipoiden könnte dann zu einer fortschreitenden Teilchenvergröberung führen, wobei man Adsorptionsvorgängen eine Rolle zuschreiben darf. Man kann aber auch annehmen, daß es sich um eine durch die Milieu-Veränderung hervorgerufene reine Globulinfällung handelt.

[2]) Wenn man auch im allgemeinen mit Recht von einer Stabilisierung des Serums beim Inaktivieren spricht, so liegen doch eine Reihe von Angaben vor, die dartun, daß auch eine Verstärkung von Fällungsvorgängen beim Erhitzen des Serums eintreten kann. So hat bereits Dieudonné gezeigt, daß bei Einwirkung von Milchzucker und Kolibacillen auf erhitztes Serum infolge der Säurebildung eine Eiweißfällung eintritt, die bei Verwendung von aktivem Serum ausbleibt (vgl. hierzu Cohnheim, Moll). Ebenso tritt nach Cernovodeanu und Henri durch kolloidales Eisenhydrat im inaktivierten Serum leichter eine Fällung ein, als im aktiven Serum. Endlich hat Sachs, in Übereinstimmung mit

spezifischen Flockung sein könnte. Eine entsprechende Wirkung könnte bei der Wassermannschen Reaktion auch dem Meerschweinchenserum zukommen.

Zusammenfassend würde sich jedenfalls ergeben, daß beim Normalserum nur die unspezifische Reaktion bei geeigneter Extraktbeschaffenheit eintreten kann. Daher entsteht unter Umständen in nicht für Syphilis charakteristischer Weise nur mit dem aktiven Serum Flockung, nicht mit inaktiviertem. Beim aktiven Syphilisserum konkurrieren die unspezifische und die charakteristische Reaktionsfähigkeit des Serums. Das Substrat der unspezifischen Komponente ist sowohl bei der Ausflockung als auch bei der Wassermannschen Reaktion außerordentlich labil und verliert bereits nach 5 Minuten langem Inaktivieren seine Funktionsfähigkeit. Daher ist die unspezifische Wassermannsche Reaktion bereits nach kurzem Erhitzen aufgehoben, während die Ausflockung gerade nach demselben Eingriff manifest werden kann. Bei langem Erhitzen nimmt die Reaktionsfähigkeit bei beiden Methoden fortschreitend ab, und beim Erhitzen auf 62° ist meist, wie das für die Wassermannsche Reaktion schon Sachs gezeigt hat, eine sichtbare Reaktion nicht mehr nachzuweisen, wohl weil durch diesen Wärmeeingriff eine solche Stabilisierung oder tiefgreifende Veränderung der Eiweißkörper erfolgt, daß die zur Ausflockung oder auch zur Komplementinaktivierung führende Globulinveränderung nicht mehr eintritt.

Aus den vorangehenden Ausführungen dürfte sich zugleich ergeben, daß die Beschaffenheit der Extrakte für die Ausflockung von wesentlicher Bedeutung ist. Vielleicht eignen sich in praktischer Hinsicht die Extrakte grade dann gut, wenn sie in bezug auf unspezifische Reaktion (direkte Globulinfällung) wenig reaktionsfähig sind, dagegen der für Syphilis charakteristischen Komponente gut einpassen. Der Cholesteringehalt dürfte wohl wesentlich dazu beitragen, um die Ausflockung zu verstärken. Woraus das Präcipitat besteht, darüber kann man vorläufig nur Vermutungen hegen. Nach einigen orientierenden Versuchen scheint es in Alkohol oder Äther mindestens zum

---

früheren Versuchen von Moll, gezeigt, daß beim Verdünnen des Serums mit Wasser von verhältnismäßig starkem Salzsäuregehalt im inaktivierten Serum eine stärkere Fällung als im aktiven eintritt, während bei Benutzung schwacher Salzsäure das Gegenteil der Fall ist.

Teil unlöslich zu sein. Man wird demnach annehmen dürfen, daß der entstandene Niederschlag aus Bestandteilen des Serums, aber evtl. auch aus den Extraktlipoiden besteht. Auf Grund des bekannten Tatsachenmaterials ist es verständlich, daß die Globulinveränderung durch die Beteiligung der Extraktlipoide zu größeren Adsorptionskomplexen führt. Dem Cholesterin kommt augenscheinlich die Funktion zu, die Vergröberung der Komplexe bis zur Unlöslichkeit zu steigern, und auch der Kochsalzgehalt dürfte hierfür, wie bereits erörtert, nicht gleichgültig sein.

Zusammenfassung.

1. Bei der Ausflockung des syphilitischen Blutserums nach Sachs und Georgi ergeben sich quantitative Unterschiede im Verhalten der einzelnen Sera.

2. Die Ausflockung ist bei niedriger Temperatur (Eisschrank) abgeschwächt oder aufgehoben. Bei Untersuchung der einzelnen Serumproben ergeben sich im übrigen gewisse Unterschiede in dem Einfluß der Temperaturveränderungen auf die Serum-Extrakt-Gemische.

3. Ebenso wie bei der Wassermannschen Reaktion scheint Säure die Ausflockung zu verstärken, Alkali sie abzuschwächen.

4. Der 0,85 $^0/_0$ige Kochsalzgehalt ist für die Ausflockung von Bedeutung. Bei verminderter Salzkonzentration entsteht Abschwächung, bei gesteigerter Verstärkung der Reaktion. Jedoch tritt bei höherem Salzgehalt leicht uncharakteristisches Gepräge ein.

Manche uncholesterinierte Extrakte, die im salzfreien Medium unspezifische Ausflockung ergeben, verlieren durch Salzzusatz dieses Verhalten, ohne aber zur Ausflockung genügend empfindlich zu werden. Bei geeigneter Cholesterinierung verschieben sich durch den Salzzusatz die Verhältnisse im Sinne eines für Lues charakteristischen Verhaltens.

5. Die Ausflockung ist häufig, wenigstens bei Benutzung bestimmter cholesterinierter Extrakte, mit aktivem Serum schwächer (oder negativ) als mit inaktiviertem Serum. Dabei besteht bei Verwendung aktiven Serums mangelnde Spezifität und zuweilen Eigenflockung in den Serumkontrollen.

Die größte Ausflockungsstärke wird in der Regel mit

5 Minuten lang inaktiviertem Serum erreicht. Bei längerem Erhitzen, bzw. bei Erhitzen auf höhere Temperatur tritt fortschreitend eine Abnahme der Reaktionsfähigkeit des Serums ein.

6. Bei Verwendung geeigneter Extrakte scheint weitgehender Parallelismus zwischen Wassermannscher Reaktion und Ausflockung zu bestehen. Divergenzen, wie die Unterschiede zwischen aktivem und inaktiviertem Serum, brauchen nicht im Sinne eines prinzipiellen Unterschiedes gewertet zu werden. Es wird erörtert, daß die Wassermannsche Reaktion mit aktivem Serum wenigstens zum Teil ein wesentlich anderer Vorgang (direkte Globulinfällung durch den Extrakt) sein kann, als diejenige mit inaktiviertem (primärer Angriffspunkt des Extrakts an für Syphilis charakteristischer Stelle, sekundäre Globulinveränderung). Bei dem letzteren Vorgang dürfte dem Cholesterin die Funktion zukommen, die Vergröberung der Adsorptionskomplexe bis zur Unlöslichkeit zu steigern.

Über den Einfluß alkalischer und saurer Hydrolyse auf Resorption und Verwertung von Eiweißkörpern.

Von

Johannes Müller.

I. Mitteilung:

Die Ausnutzung von hydrolysiertem Casein.

Von

Johannes Müller und Hans Murschhauser.

(Aus dem biochemischen Institut der Düsseldorfer Akademie für prakt. Medizin. Vorstand: Professor Johannes Müller.)

(Eingegangen am 12. September 1918.)

Die Hydrolyse des Eiweißes, insbesondere die alkalische, hat seit längerer Zeit dadurch praktische Bedeutung, daß sie zur Herstellung diätetischer Präparate (z. B. der Somatose) Verwendung findet. Während des Weltkrieges ist diese Bedeutung in ungeahntem Maße gewachsen, seit zur Gewinnung von Ersatzfuttermitteln an sich sehr schlecht verwertbare Produkte der künstlichen Aufschließung unterworfen werden. Auch im hiesigen Institute ist ein derartiges Verfahren für ein bestimmtes Abfallprodukt ausgearbeitet worden und inzwischen in großem Maßstabe praktisch in der Technik zur Ausführung gekommen. Die Erfahrungen, die in zahlreichen Stoffwechselversuchen am Schwein und am Hammel mit dem gewonnenen aufgeschlossenen Material gemacht wurden, gaben Veranlassung, den Einfluß der Hydrolyse von Eiweiß auf dessen Resorption systematisch zu untersuchen.

Aber ganz abgesehen von dem aktuellen praktischen Interesse ist das in Angriff genommene Problem auch in allgemein-

physiologischer Beziehung einer näheren Erforschung wert. Wird durch die Hydrolyse die Resorption und Verwertung verschlechtert, so können dabei mehrere Ursachen gleichzeitig eine Rolle spielen. Die bei der Hydrolyse zu beobachtende erhebliche Desamidierung, das Auftreten von Schwefelwasserstoff u. a. m. weisen auf starke Eingriffe in das strukturelle Gefüge der Moleküle hin. Welche Substanzen dabei entstehen, ist unbekannt. Eben diese Substanzen — oder einige von ihnen — sind es aber, die die Verschlechterung der Resorption bedingen; sie können einmal eine stärkere Peristaltik hervorrufen, die den Darminhalt zu rasch an den resorbierenden Flächen vorüberführt; die auftretenden Durchfälle sprechen in diesem Sinne. Sie können weiter durch Reizung der resorbierenden Elemente diese in einen physikalischen Zustand versetzen, der ihre Tätigkeit beeinträchtigt. Endlich aber können die veränderten Moleküle für die Fermente, insbesondere das Erepsin, schwer angreifbar geworden sein, oder, wenn man die Hypothese wagt, daß zum Vorgang der Resorption eine intermediäre Bindung an Substanzen der Darmwand nötig ist, so kann diese Bindung unmöglich geworden sein. Auf alle diese Punkte werden die folgenden Untersuchungen gerichtet sein.

Die gegenwärtigen Verhältnisse geben Veranlassung, auf theoretische und literarische Exkurse zunächst zu verzichten. Es sollen lediglich die experimentellen Resultate wiedergegeben werden.

Experimentelles.

Die ersten Versuche wurden mit hydrolysiertem Casein angestellt; es war der einzige Eiweißkörper, der aus Friedenszeiten zur Verfügung stand. Außerdem boten die Untersuchungen von Paal und Skraup für ihn eine gewisse chemische Basis. Das Ziel war, die Veränderungen in der Ausnutzung bei verschieden weitgehender Hydrolyse festzustellen. Als Versuchstier diente ein bei zahlreichen früheren Stoffwechselversuchen ausgezeichnet bewährter Terrier.

Das Casein war ein Kahlbaumsches Friedenspräparat („klar löslich"). Es gelangte in lufttrockenem Zustande zur Verwendung. Sein N-Gehalt (lufttrocken) betrug 13,15 %. Die in Periode VII verfütterte Protalbinsäure hatte einen N-Gehalt von 13,34 %.

Das Fleisch wurde für jede Periode auf einmal beschafft; es war stets mageres, von Sehnen freies Material. Nachdem es die Fleischhackmaschine passiert hatte, wurde gemischt, Proben für die Analyse genommen und die Tagesportionen sofort abgewogen und auf Eis aufbewahrt. Der N-Gehalt des Fleisches war folgender:

I. Periode	3,42 %		V. Periode	3,42 %
II. „	3,42 %		VI. „	3,14 %
III. „	3,53 %		VII. „	3,48 %
IV. „	3,42 %		VIII. „	3,60 %

Um eine annähernde Vorstellung über den Ammoniakverlust während der Hydrolyse zu gewinnen, wurden 15 g Casein (lufttrocken) mit 75 ccm 3 %igem NaOH $1^1/_4$ Stunden im kochenden Wasserbade am absteigenden Kühler erhitzt; das dabei übergehende Ammoniak wurde in $^n/_{10}$ H_2SO_4 aufgefangen. Nach $1^1/_4$ Stunden wurde durch die abgekühlte Flüssigkeit $^3/_4$ Stunde lang ein langsamer, durch H_2SO_4 gewaschener Luftstrom geleitet, wobei wieder $^n/_{10}$ H_2SO_4 vorgelegt war. Vorgelegt 100 ccm $^n/_{10}$ H_2SO_4.

Zum Zurücktitrieren wurden verbraucht 61,5 ccm $^n/_{10}$NaOH.

Es waren also 0,054 g N als Ammoniak übergegangen = 2,7 % des gesamten Casein-N. Anschließend wurde die Flüssigkeit, um das gebildete NH_3 möglichst genau zu bestimmen, mit NaCl gesättigt, Toluol und Petroleum zugegeben und nun ein sehr lebhafter, durch H_2SO_4 gewaschener Luftstrom 6 Stunden hindurchgeleitet. Das übergehende Ammoniak wurde wieder in $^n/_{10}$ H_2SO_4 aufgefangen. Es gingen noch über 0,0834 g N = 4,23 % des angewandten Casein-N.

Total wurden also durch die Hydrolyse in NH_3 übergeführt vom Gesamtstickstoff des hydrolysierten Caseins: 2,7 % + 4,23 % = 6,93 %.

In den Berechnungen der einzelnen Perioden des Ausnutzungsversuches, in denen hydrolysiertes Casein verfüttert wurde, wurde die Menge Stickstoff, die das hydrolysierte Casein ursprünglich enthielt, als Einnahme in Rechnung gesetzt. Die Ausnutzungszahlen müssen also eigentlich entsprechend erhöht werden.

Die letzte Periode (VIII) ging aus folgender Überlegung hervor: War lediglich die verstärkte Peristaltik an der schlechten

Ausnutzung schuldig, so war es denkbar, daß Opium, trotzdem es an sich die Resorption ungünstig beeinflußt, in diesem besonderen Falle zu einer besseren Ausnutzung führte. Der Hund erhielt deshalb nach jeder Mahlzeit dieser Periode und dann noch zweimal nach je $3^1/_2$ Stunden in einem Fleischklößchen: Opii pulv. 0,1, Sacch. 0,5. Die Ausnutzung wurde aber tatsächlich nicht verbessert, eher ungünstig beeinflußt.

Zur Schilderung des Verlaufes der einzelnen Perioden dürften keine weiteren Bemerkungen nötig sein.

I. Periode.

Der Hund erhielt:

am 6. V. morgens 50 g ausgekochte Knochen als Abgrenzungsmittel;
„ 6. V. abends 200 g frisches Fleisch mit 7 g Kochsalz;
„ 7., 8., 9. V. je 200 g Fleisch mit 7 g Kochsalz;
„ 10. V. morgens 50 g ausgekochte Knochen.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:
800 g Fleisch = 27,36 g N.	Harn 19,9 g N; Faeces 0,65 g N
	(Trockenmenge = 15,23 g)

Ausnutzung des Fleisch-N = 97,6 %.

II. Periode.

Der Hund erhielt:

am 10. V. nachmittags 200 g frisches Fleisch, 30 g Casein, 7 g Kochsalz;
„ 11., 12., 13. V. ebenfalls je 200 g Fleisch, 30 g Casein und 7 g Kochsalz; das Futter wurde täglich in 3 Portionen gereicht;
„ 13. V. erhielt er außerdem abends 50 g ausgekochte Knochen.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:
800 g Fleisch = 27,36 g N	Harn 34,64 g N Faeces 1,26 gN
120 g Casein = 15,78 g N	(Trockenmenge = 22,4 g)
Gesamt = 43,14 g N	

Nach der I. Periode lieferten 800 g Fleisch = 0,65 g Faeces-N;
es treffen somit auf das Casein-N = 0,61 g „

Das Casein-N ist somit zu 96,1 % ausgenutzt worden.

III. Periode.

In dieser Periode wird neben Fleisch ein durch Natronlauge aufgeschlossenes Casein verfüttert. Die Aufschließung erfolgte in der Weise, daß 30 g Casein in 150 ccm 3 %ige Natronlauge unter fortwährendem Schütteln eingetragen und dann $1^1/_4$ Stunden am Rückflußkühler im kochenden Wasserbad erhitzt wurden. Nach dem Abkühlen wurde in einer Porzellanschale mit Salzsäure neutralisiert und zur Entfernung von Schwefelwasserstoff kurze Zeit erwärmt. Die resultierende zähe Flüssigkeit wurde mit dem Fleisch vermengt und verfüttert.

Der Hund erhielt:
am 14. V. 200 g Fleisch mit 30 g aufgeschlossenem Casein;
„ 15., 16., 17. V. je 200 g Fleisch mit 20 g aufgeschlossenem Casein;
„ 18. V. morgens 50 g ausgekochte Knochen.
Die Tagesmenge wurde in 3 Portionen gegeben.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:
800 g Fleisch = 28,00 g N	Harn 32,32 g N Faeces 5,47 g N [1]
90 g Casein = 11,83 g N	(Ges.-Trockenmenge = 31,90 g)

[1] Die Hauptmenge der Faeces wurde am 17. V. und 18. V. entleert. Die Faeces waren teils sehr dünnflüssig, teils breiig. Da die Entleerungen während der Nacht erfolgt waren, so liefen sie in beiden Fällen zum Teil durch den Trichter des Stoffwechselkäfigs in das etwas Säure enthaltende Sammelgefäß für den Harn. Es waren somit Harn und Faeces gemischt. Um die Versuchsperiode nicht zu verlieren, wurde versucht, Harn- und Kotbestandteile zu trennen und zu bestimmen. Dies geschah, indem das mit Essigsäure angesäuerte Gemisch zentrifugiert und die abzentrifugierte Kotmasse mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen wurde; das Waschwasser wurde zu dem flüssigen Anteil, die gewaschenen, abzentrifugierten Kotmengen zu der Hauptmasse des nicht mit Harn vermischten Kotes gegeben. Die Kotmengen wurden eingedampft und in einem aliquoten Teil des Trockenkotes der gesamte Stickstoff, der ja nur Faeces-N sein kann, bestimmt.

In dem abzentrifugierten flüssigen Anteil samt den Waschwässern, dessen Menge gemessen war, wurde

1. der Gesamt-Stickstoff nach Kjeldahl,
2. der Harnstoff-Stickstoff nach Mörner-Sjöquist,
3. der Ammoniak-Stickstoff nach Folin (O. Folin, Zeitschr. f. physiol. Chemie 37, 161, 1902 bis 1903)

bestimmt.

Die für 2 und 3 gefundenen Werte wurden als Harnstickstoff in die Bilanz eingesetzt, die Differenz zwischen diesen und dem Gesamtstickstoff als aus dem Kote stammend zum Kot-N addiert.

Es ergaben sich für die beiden Tage folgende Resultate für die flüssigen Anteile des Zentrifugates:

	Gesamt-N	Harnstoff-N	Ammoniak-N
17. V. 1918	11,64 g	3,95 g	6,11 g
18. V. 1918	1,33 g	0,49 g	0,25 g

Harnstoff-N und Ammoniak-N vom 17. V. = 10,06 g ergeben somit den Harnstickstoff dieses Tages; Harnstoff-N und Ammoniak-N vom 18. V. gehören nicht zur Periode, mußten aber bestimmt werden, da ohne ihre Kenntnis die Menge des Kot-N dieses Tages, der noch zur Periode gehörte, nichr zu ermitteln gewesen wäre. Aus der Differenz zwischen Gesamt-N und den beiden anderen Werten ergibt sich der Kot-N mit 2,17 g, die, zu dem in dem unvermischten Kote bestimmten N-Werte von 3,30 g addiert, den gesamten Kot-N der Periode darstellen.

Von dem Faeces-N stammen nach Periode I 0,67 g aus Fleisch, somit aus Casein 4,80 g N.

Das Casein-N wurde demnach zu 59,0 % ausgenutzt.

IV. Periode.

Diese Periode ist eine Wiederholung der III. Periode.

Um die heftig abführende Wirkung des aufgeschlossenen Caseins zu mildern, wurden dem Hunde täglich nur 15 g dieses Caseins gereicht; die Aufschließung erfolgte in derselben Weise wie oben erwähnt, indem 15 g Casein mit 75 ccm 3 %iger Natronlauge 1¼ Stunden am Rückflußkühler erhitzt und nachher die Natronlauge mit Salzsäure neutralisiert wurde.

Der Hund erhielt:

am 28. V. abends 50 g ausgekochte Knochen; an den darauffolgenden 4 Tagen, also

„ 29., 30., 31. V. und 1. VI. je 200 g Fleisch mit 15 g aufgeschlossenem Casein;

„ 2. VI. zur Abgrenzung 50 g ausgekochte Knochen.

Die Nahrung wurde täglich in 3 Portionen gereicht.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:	
800 g Fleisch = 27,36 g N	Harn 24,53 g N	Faeces 3,86 g N[1]
60 g Casein = 7,89 g N		(Trockensubstanz = 20,8 g)

Von den 3,86 g N im Kot entfallen 0,65 g N auf das Fleisch; also 3,21 g N auf das Casein.

Das Casein-N wurde somit auch in dieser Periode genau wie in der vorhergehenden zu 59,3 % ausgenutzt.

---

[1]) Die Hauptmengen der Faeces dieser Periode wurden am 3. VI. entleert. Sie waren wieder breiig bis dünnflüssig.

Nach den Erfahrungen, die wir in der vorhergehenden Periode gewonnen hatten, wechselten wir regelmäßig abends das Harngefäß, damit die erwarteten Kotmengen sich nicht wieder mit dem Harn vermischen sollten, oder aber, falls eine Vermischung eintreten sollte, die Harnmenge geringer wäre.

Die am 3. VI. entleerten Faeces erschienen wieder mit Harn vermischt und mußten demnach wie in der vorhergehenden Periode behandelt werden.

Ihre Untersuchung ergab folgendes Resultat:

Gesamt-N	Harnstoff-N	Ammoniak-N
2,68 g	0,33 g	0,37 g

Harnstoff- und Ammoniak-N (zusammen 0,70 g) vom Gesamt-N subtrahiert, ergibt 1,98 g N, die, zu der N-Menge des nicht mit Harn vermischten Kotes von 1,88 g addiert, als Gesamtkot-N = 3,86 g liefern.

Die außerordentlich gute Übereinstimmung zwischen den Ausnutzungszahlen der III. und IV. Periode (59 % und 59,3 %) rechtfertigt das angewandte analytische Verfahren.

V. Periode.

Das Auftreten von Diarrhöen bei Fütterung mit alkalisch aufgeschlossenem Casein machte die Einschaltung von Zwischenperioden wechselnder Dauer, während der der Hund mit Suppen aus der Küche gefüttert wurde, nötig, wenn die Abgrenzung der einzelnen Perioden befriedigend werden sollte. Der Hund erhielt deshalb erst am 4. VI. abends wieder 50 g ausgekochte Knochen. Die in dieser Periode gereichte Nahrung bestand außer Fleisch aus Casein, das mit einer Salzsäure aufgeschlossen war, die einer 3%igen Natronlauge äquimolekular ist. 10 g Casein wurden mit 100 ccm 2,74%iger Salzsäure 4 Stunden im kochenden Wasserbade am Rückflußkühler erhitzt; nach dem Erkalten wurde mit Natronlauge neutralisiert und die neutralisierte Lösung ohne weiteres dem Fleisch beigemengt.

Der Hund erhielt während 4 Tagen (5., 6., 7., 8. VI.) je 200 g Fleisch mit 20 g des mit Salzsäure aufgeschlossenen und neutralisierten Caseins; am 10. VI. wurden zur Abgrenzung Knochen (50 g) gegeben. Die Tagesmenge wurde wie in den Vorperioden in 3 Portionen gereicht.

N-Einnahme in 4 Tagen:	N-Ausgabe in 4 Tagen:
800 g Fleisch = 27,36 g N	Harn 31,36 g N Faeces 0,80 g N
80 g Casein = 10,52 g N	(Ges.-Trockenf. = 14,68 g)

Von diesen 0,80 g N der Faeces entstammen 0,65 g aus Fleisch, 0,15 g aus dem Casein.

Das Casein-N wurde in dieser Periode zu 98,6% ausgenutzt.

Die Hauptmenge der Faeces dieser Periode wurde erst am 11. VI. morgens entleert; die Faeces waren geformt, so daß nichts davon in den Harn abfließen konnte.

VI. Periode.

In dieser Periode wurde Casein verfüttert, das mit 3%iger Natronlauge durch 2stündiges Erhitzen im Dampftopf bei 4 Atmosphären (150°) aufgeschlossen und dann neutralisiert worden war; das Verhältnis zwischen Natronlaugemenge und Casein war dasselbe wie in Periode II und IV.

Der Hund erhielt am 11. VI. abends 60 g ausgekochte Knochen; an den darauffolgenden 4 Tagen (12., 13., 14., 15. VI.) je 200 g Fleisch mit 15 g Casein, welch letztere mit 75 ccm 3%iger Natronlauge zwei Stunden bei 4 Atmosphären erhitzt, nachher mit Salzsäure neutralisiert und so dem Fleisch zugesetzt worden waren; am 16. VI. erhielt er kein Futter, am 17. VI. ausgekochte Knochen; die Darreichung des Futters erfolgte in 3 Portionen.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:
800 g Fleisch = 25,12 g N	Harn 24,39 g N Faeces 5,41 g N[1])
60 g Casein = 7,89 g N	(Trockengew. = 32,6 g N)

[1]) Die Faeces waren, wie nach Periode III und IV zu erwarten war, sehr dünnflüssig und liefen trotz aller Aufmerksamkeit, die auf

Von den 5,41 g Faeces-N entstammen 0,60 g dem Fleisch-N und 4,81 g N dem Casein-N.

Das Casein-N wurde somit nur zu 39 % ausgenutzt.

VII. Periode.

Verfüttert wurde Protalbinsäure, die nach Paal[1]) durch einstündiges Erhitzen von Casein mit 3 %iger Natronlauge am Rückflußkühler und nachfolgende Fällung mit Essigsäure usw. erhalten worden war.

Zur Abgrenzung des Kotes wurden am 4. VII. abends 50 g ausgekochter Knochen gegeben. An den darauffolgenden 4 Tagen (5., 6., 7., 8. VII.) erhielt der Hund pro Tag 200 g Fleisch, 10 g Protalbinsäure, die als Pulver unter Zuhilfenahme von etwas Wasser unter das Fleisch gemengt worden war, und 7 g Kochsalz.

Die Schlußabgrenzung mit Knochen erfolgte am 9. VII.

Die Nahrung wurde, wie in den übrigen Perioden, in 3 Portionen täglich gereicht.

N-Einnahme in den 4 Tagen:	N-Ausgabe in den 4 Tagen:
800 g Fleisch . . . = 27,84 g N	Harn 30,48 g N Faeces 4,46 g N
40 g Protalbinsäure = 5,34 g N	(Ges.-Trockenf. = 45,17 g)

Die Menge des im Kot erscheinenden N aus Fleisch beträgt bei dessen Ausnutzung zu 97,6 % = 0,67 g N; auf Protalbinsäure entfallen 3,79 g N.

Die Protalbinsäure wird somit zu 29,0 % ausgenutzt.

Die Faeces dieser Periode wurden am 10. VII. morgens beinahe vollständig entleert; sie waren breiig, nicht flüssig, und konnten leicht, ohne Verlust in den Harn, gesammelt werden.

---

ihre gesonderte Auffangung gerichtet war, mit einem Teil des Harns vom 15. VI. und 16. VI. zusammen. Die Mischung von Harn und Kot wurde in der oben beschriebenen Weise getrennt und analysiert. Es ergab sich folgendes Resultat in dem abzentrifugierten flüssigen Anteil der Mischung:

	Gesamt-N	Harnstoff-N	Ammoniak-N
15. VI.	3,97 g	2,04 g	0,20 g
16. VI.	2,81 g	1,74 g	0,31 g

Harnstoff-N und Ammoniak-N vom 15. VI. wurden dem übrigen Harn-N dieses Tages hinzuaddiert; die entsprechenden Werte vom 16. VI. fallen jenseits der Periode und haben nur für die Ermittelung des Kot-N-Anteils Bedeutung. Nach Abzug der 4 Werte für den Harn ergibt sich:

für den in den Harn übergegangenen Kot eine Stickstoffmenge von 2,49 g
die Menge des übrigen Kot-N beträgt . . . . 2,92 g

somit der gesamte Kot-N = 5,41 g.

[1]) Paal, B. B. 35, II, 2197.

VIII. Periode.

In dieser Periode wurde untersucht, ob durch Opium bzw. Verringerung der Peristaltik eine bessere Ausnutzung zu erzielen sei.

Das Casein wurde wie in Periode III und IV mit NaOH hydrolysiert (je 15 g Casein mit 75 ccm 3%iger Lauge 1¼ Stunden am Rückflußkühler im kochenden Wasserbad), dann genau neutralisiert und nach Abkühlen und längerem Überleiten von Luft der Hauptmenge des Fleischfutters beigemengt. Gleich nach der Mahlzeit wurde in etwas Fleisch ein Opiumpulver (opii pulv. 0,1, sacch. 0,5) und nach Ablauf von je 3½ Stunden noch zweimal ein weiteres wieder in Fleisch gegeben.

Am 23. VII. hungerte der Hund (seit 22. VII. abends); um 6 Uhr abends erhielt er 50 g ausgekochte Knochen.

Am 24. VII. mittags wird der größte Teil der Tagesration an Fleisch (täglich 250 g) mit 15 g hydrolysiertem Casein gereicht. Der Rest des Fleisches dient in der angeführten Weise zur Einhüllung des Opiums.

Am 25., 26., 27. wurde genau so verfahren.

Am Morgen des 28. VII. erhielt der Hund wieder 50 g ausgekochte Knochen und hungerte dann bis zum 29. VII. abends.

Der erste Knochenkot erschien am Abend des 24. VII. gänzlich unvermischt in fester Form.

Am 28. VII. morgens wurde die Hauptmenge des Kotes der Periode abgesetzt; er war von weicher Konsistenz, aber geformt, und konnte ohne jede Vermischung mit Harn quantitativ gewonnen werden.

Am 29. VII. abends erfolgte nach einer diarrhöischen Entleerung die Absetzung des zweiten Knochenkotes. Auch diesmal war eine Vermischung mit gleichzeitig entleertem Harn nicht zu vermeiden, weshalb wie in Periode III und IV verfahren wurde. Der feste Rückstand des sauren Zentrifugats wurde zum Kot vom 28. VII. gegeben, der wäßrige Auszug + Waschwasser auf N nach Kjeldahl, auf NH_3 nach Folin, auf Harnstoff nach Mörner-Sjöquist analysiert. Es wurde gefunden: Gesamt-N 1,345 g; 0,83 g N aus NH_3; 0,2495 g N aus Harnstoff. Demnach N aus Kot 0,265 g.

N-Einnahme in 4 Tagen:		N-Ausgabe in 4 Tagen:	
aus 1000 g Fleisch . .	= 36,0 g N	Im Harn	25,19 g N
„ 60 g Caseinhydrol.	= 7,88 g N	„ Kot	4,30 g N (4,03 + 0,265)
Gesamt	= 43,88 g N	Gesamt	29,49 g N

1000 g Fleisch lieferten nach der I. Periode 0,864 g N im Kot.

Demnach stammen 4,3—0,864 g N = 3,436 g des Kotes aus dem hydrolysierten Casein.

Das hydrolysierte Casein wurde also in der VIII. Periode zu 56,4% ausgenutzt.

Das Opium hat demnach seine ungünstige Wirkung auf die Resorption geltend gemacht; eine Besserung der Ausnutzung durch Verringerung der Peristaltik trat nicht ein.

Die folgende Tabelle zeigt übersichtlich zur Vergleichung die Resultate der einzelnen Perioden:

Periode	Verfüttertes Material	Ausnutzung %
II.	Casein unverändert	96,1
III.	Casein mit NaOH hydrolysiert	59,0
IV.	„ „ „ „	59,3
VIII.	„ „ „ „ + Opium	56,4
VI.	Casein mit NaOH hydrolysiert unter Druck . . .	39,0
VII.	Protalbinsäure	29,0
V.	Casein mit HCl hydrolysiert	98,6

Besonders bemerkenswert erscheint die geringe Ausnutzbarkeit der von Paal unter dem Namen Protalbinsäure zusammengefaßten Produkte der alkalischen Hydrolyse. Es scheint daraus zu folgen, daß bei einer Ausnutzung der gesamten Produkte der Hydrolyse von etwa 60 % (Periode III, IV und VIII) die „Lysalbinsäure" viel besser, rechnungsmäßig bis zu 90 % ausgenutzt werden kann. Hier scheint also ein Fingerzeig für die Isolierung der in der Einleitung besprochenen Substanzen gegeben zu sein.

Die nächste Mitteilung wird über die Stickstoffverteilung in den einzelnen Hydrolysaten berichten.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

38. Mitteilung.

Der Einfluß der Milz auf den respiratorischen Stoffwechsel.

Von

Nikola Danoff.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 28. August 1918.)

Mit 9 Figuren im Text.

Bei ihren Untersuchungen über die Funktionen der Milz haben Asher und seine Mitarbeiter mehrfach Gelegenheit gehabt, auf Erscheinungen zu stoßen, die sehr dafür sprachen, daß die Milz einen Einfluß auf den Stoffwechsel, insbesondere auf den respiratorischen Stoffwechsel besitzt. Den wichtigsten Ausblick in dieser Beziehung eröffnete die jüngst erschienene Arbeit von Hans Streuli[1]) aus dem Berner physiologischen Institut, welcher fand, daß entmilzte Ratten in einer Kammer, in der Unterdruck erzeugt werden konnte, einen sehr viel geringeren Unterdruck ertrugen als gleichzeitig in derselben Kammer befindliche Normalratten. Noch viel größer war der Unterschied gegenüber schilddrüsenlosen Tieren. Da Rippstein[2]), gleichfalls im Berner Institut, den Nachweis hatte

---

[1]) Hans Streuli, Das Verhalten von schilddrüsenlosen, milzlosen Tieren bei O_2-Mangel, zugleich ein Beitrag zur Theorie der Bergkrankheit. Diese Zeitschr. 87, 5. und 6. Heft, 1918.

[2]) Erwin Rippstein, diese Zeitschr. 80.

führen können, daß die Symptome in der Unterdruckkammer in erster Linie auf Sauerstoffmangel beruhten, gelangte Streuli folgerichtig zu dem Schlusse, daß milzlose Ratten den Sauerstoffmangel sehr viel schlechter ertrügen als normale, noch viel mehr aber als schilddrüsenlose Ratten, die gegenüber Sauerstoffmangel noch günstiger sich verhielten als die normalen Tiere. Diese von Streuli gefundenen Tatsachen enthielten die dringende Anregung, den respiratorischen Stoffwechsel selbst der milzlosen Ratten zu untersuchen. Daher folgte ich der Aufforderung von Professor Asher, um unter seiner Leitung den respiratorischen Stoffwechsel von normalen und milzlosen Ratten miteinander zu vergleichen.

Ehe ich auf Plan und Ausführung meiner eigenen Arbeit eingehe, will ich ganz kurz einige Bemerkungen über anderweitige Erfahrungen über die Beziehungen zwischen Milz und Stoffwechsel machen, die allerdings nur orientierender Natur sein sollen und keinen Anspruch erheben, irgendwie die Literatur des Gegenstandes erschöpfend darzulegen.

Da bis zu den Untersuchungen der Asherschen Schule in keiner Weise und nach keiner Richtung hin eine gesicherte Vorstellung über die Funktionen der Milz vorlag, kann man auch nicht erwarten, über die Beziehungen zwischen Milz und Stoffwechsel Angaben zu finden, die Eingang in die Wissenschaft gefunden hätten. Es liegen einige ältere Stoffwechseluntersuchungen vor über das Verhalten von Endprodukten und Zwischenprodukten des Stoffwechsels von Eiweiß und anderen Stickstoffkörpern. Die Ergebnisse sind durchaus widersprechender Natur, so daß man aus denselben weder einen Einfluß der Milz behaupten, noch völlig ablehnen kann. Neuerdings hat Charles Richet[1]) einige Untersuchungen veröffentlicht, aus denen er den Schluß zieht, daß die Milz einen wichtigen Einfluß auf den Stoffwechsel ausübt. Im wesentlichen bestehen seine Befunde darin, daß die entmilzten Hunde ein Drittel mehr Nahrung brauchen als die normalen Hunde und auch sonst Abweichungen in ihren Gewichtsverhältnissen

[1]) Charles Richet, Des Effets de l'Ablation de la rate sur la nutrition. Journ. de phys. et de path. gén. **14**, 689 bis 703, 1912 und **15**, 579 bis 583, 1913.

zeigen. Man gewinnt aus diesen Angaben nicht die Überzeugung, daß ein gesicherter Rückschluß auf den Anteil der Milz auf den Stoffwechsel möglich wäre.

Etwas direktere Hinweise auf einen Anteil der Milz an Stoffwechselerscheinungen unter pathologischen Bedingungen liefern die Befunde von Pick und Hashimolo[1]), die zeigen, daß der erhöhte Eiweißabbau in der Leber im anaphylaktischen Schock nach Entfernung der Milz sich merklich vermindert. Eine Reihe von amerikanischen Autoren haben in neuerer Zeit Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel entmilzter Hunde veröffentlicht, in denen sie zu einem mehr oder weniger negativen Ergebnis gelangt sind.

Somit bleiben als einzig wirklich sichere Grundlage für die Beziehung der Milz zum respiratorischen Stoffwechsel die oben mitgeteilten Beobachtungen von Streuli. Da diese Beobachtungen an Ratten angestellt wurden, war es natürlich gegeben, auch meine Versuche an den gleichen Tieren anzustellen.

Die Aufgabe, die zu lösen war, war die, an weißen Ratten durch den direkten Versuch den respiratorischen Stoffwechsel vor und nach der Entmilzung zu ermitteln. Da bisher keine umfassenden Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel der normalen Ratten vorlagen, war zuerst eine Methode auszuarbeiten, um an diesen Tieren den respiratorischen Stoffwechsel zu bestimmen und die Bedingungen zu ermitteln, von denen innerhalb der physiologischen Grenzen der Grundumsatz abhängt.

Für kleine Tiere besitzen wir eine Methode von Haldane[2]), die er selbst an Kaninchen und Meerschweinchen ausgeprobt hat. Ob diese Methode auch für so kleine Tiere, wie die von mir benutzten weißen Ratten sind, hinreichende Genauigkeit besitzt, mußte noch Gegenstand eigener Versuche sein. Ich kann vorgreifend vorausschicken, daß die Methode auch bei den von mir benutzten kleinen Tieren sich durchaus bewährte.

---

[1]) Pick und Hashimolo, Arch. f. experim. Pathol. 76. 1914.

[2]) J. Haldane, A new form of Apparatus for measuring the Respiratory Exchange of Animals. The Journal of Physiology 12, 419.

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß durch vorgelegte Schwefelsäure und vorgelegten Natronkalk wasserfrei und kohlensäurefrei gemachte Luft durch einen gedichteten Kasten, in dem sich das Tier befindet, durchgesaugt wird. Die Luft passiert dann vorgelegte Flaschen, in denen sich Schwefelsäure bzw. Natronkalk befindet. Die Wägung der zuletzt genannten vorgelegten Flaschen sowie des Kastens mit den Tieren vor und nach dem Versuch gibt in sogleich näher zu beschreibender Weise die gebildete Kohlensäure und den verbrauchten Sauerstoff.

Ich beschreibe die Versuchsordnung an Hand der Fig. 1. Jede von den Absorptionsflaschen F^1, F^2, F^3 und F_1, F_2, F_3 wiegt leer un-

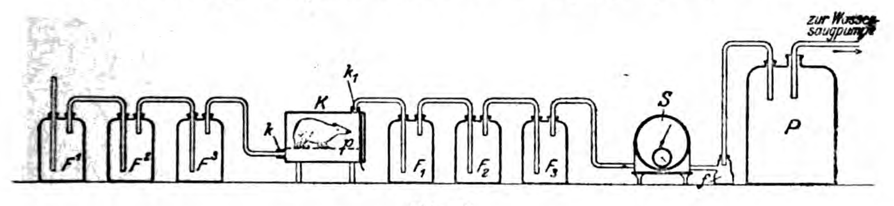


Fig. 1.

gefähr 380 g und ist 13 cm hoch und 7 cm breit im Diameter. Die Flaschen F^1, F^3 und F_1, F_3 enthalten bis zur Hälfte ihrer Höhe konzentrierte H_2SO_4. Einmalige Füllung jeder Flasche mit ca. 490 g H_2SO_4 hat für alle meine Versuche gereicht. Die Flaschen F^2 und F_2 sind mit Natronkalk gefüllt. Den Natronkalk (auf 350 g) in der Absorptionsflasche F^2 kann man ruhig lange Zeit gebrauchen — wir haben ihn nie gewechselt —, da nach unseren Messungen sich herausgestellt hat, daß bei jedem Versuche diese Flasche F^3 kaum um 1 cg zunahm. Den Natronkalk in der Flasche F_2 haben wir dagegen öfters gewechselt, da dieser (auch 350 g an Gewicht) keine größere Menge als 30 g CO_2 zu binden vermag. Der nach Angaben von Prof. Asher konstruierte Respirationskasten K wiegt 775 g (die Firma Stoppani & Co. in Bern liefert den Kasten). Der Kasten besteht aus einem 15,5 cm langen und 9,5 cm im Durchmesser breiten Rohr und aus einem Deckel (D). Das Rohr und die Ständer des Rohres sind aus 1 mm dickem Blech gemacht, der Deckel (D) aus einem dickeren Messingring, der eine Glasscheibe einfaßt. Durch diese Glasscheibe kann man das Tier im Kasten während des Versuches beobachten. An der Innenseite des Messingringes ist ein Gummiring aufgelegt. Der Deckel (D) wird an das Rohr mittels 1 mm dickem Gewinde festgeschraubt. Vermittels Vaseline wird die Verbindung zwischen dem Deckel und dem Rohre ganz gedichtet. Auf dem Boden des Kastens ist eine parallelogrammartige durchlöcherte Metallplatte (p) aufgelagert, die so breit ist, daß sie über das Loch, wo

die Kanüle (k) im Kasten einmündet, in horizontaler Lage liegt. Die Kanülen (k) und (k^1) sind 4,5 cm lang und 1,5 cm breit im Diameter.

Das Fläschen (f) wurde angebracht, damit das Wasser, das bei starker Durchlüftung aus dem Spirometer gerissen wird, in dasselbe ausfließt und so die Durchlüftung nicht stört. Die Pufferflasche (P) mit einem Fassungsvermögen von 10 Liter dient zum Ausgleich der Druckschwankungen in der Wasserleitung.

S ist das Spirometer von Fleischl, um die Stärke und die Menge der durchgesaugten Luft zu messen.

Die einzelnen Flaschen sind unter Dichtung vermittels Siegellack durch paraffinierte Korkstopfen verschlossen und durch Glasröhren unter Zwischenschaltung von starkwandigen Gummischläuchen miteinander verbunden.

Die drei Absorptionsvorflaschen F^1, F^2, F^3, der Respirationskasten (K), die drei Absorptionsnachflaschen F_1, F_2, F_3, das Spirometer (S), das kleine Fläschchen (f) und die Pufferflasche (P) werden auf Dichtigkeit geprüft. Die Ratte wird in den Respirationskasten gebracht. Der Respirationskasten mit der Ratte, jede von den drei Absorptionsflaschen F_1, F_2, F_3 werden beim Beginn des Versuches mit Genauigkeit bis auf cg (dieses war die Genauigkeitsgrenze der zur Verfügung stehenden Präzisionswage) gewogen. Die Ratte allein wird mit Abrundung bis auf g vor dem Versuche gewogen (G). Man setzt die Saugpumpe in Gang und kontrolliert am Spirometer die Stärke der Durchlüftung. Stärker als 15 l^3 pro Stunde haben wir nicht ventiliert, da die Ratten dann unruhig werden, und schwächer als 3 l^3 auch nicht, da die Ratten in diesem Falle ersticken. Am Schluß des Versuches haben wir immer kurze Zeit (5 Minuten) viel stärker (50 l pro Stunde) als gewöhnlich ventiliert, um die verbliebene Menge Wasserdampf und CO_2 vollständig aus dem Respirationskasten der Ratte zu entziehen. Der Buchstabe L in den folgenden Tabellen bedeutet die Zahl der während des Versuchs durchgesaugten Kubikliter Luft. Die Temperatur des Arbeitszimmers (T) wird beim Beginn und beim Schluß des Versuches notiert. Wir haben während des Tages und während der Nacht (von abends bis morgens) Versuche gemacht.

Die Atmosphärenluft tritt in die Flasche F^1, wo sie ihren Wassergehalt verliert; in der Flasche F^2 verliert sie ihren CO_2-Gehalt; in der Flasche F^3 bleibt das vom feuchten Natronkalk übergegangene Wasser gebunden, und so tritt Wasser und CO_2-freie Luft in den Respirationskasten der Ratte ein. Aus der Kammer austretende, durch die Atmung der Ratte veränderte Luft tritt in die Flasche F_1 und verliert dort die während des Versuchs von der Ratte gebildete Wassermenge. In der Flasche F_2 wird die gebildete Menge CO_2 vom Natronkalk absorbiert, und in der Flasche F_3 bleibt das vom feuchten Natronkalk abgegebene Wasser gebunden. Der Kasten mit der Ratte, jede von den drei Absorptionsnachflaschen F_1, F_2, F_3 werden beim Schlusse des Versuches wieder gewogen.

Die Berechnung des Ergebnisses geschieht folgendermaßen:

Der Respirationskasten mit der Ratte wiegt vor dem Versuche (C) g
„ „ „ „ „ „ nach „ „ A g

Der Respirationskasten mit der Ratte hat abgenommen $C - A = b$ g

Die Absorptionsnachflasche F_1 wiegt vor dem Versuche D g
„ „ „ „ nach „ „ F g

Die Absorptionsnachflasche F_1 hat zugenommen $F - D = e$ g

Die Absorptionsflasche F_2 wiegt vor dem Versuche G g
„ „ „ „ nach „ „ I g

Die Absorptionsflasche F_2 hat zugenommen $I - G = h$ g

Die Absorptionsflasche F_3 wiegt vor dem Versuche K g
„ „ „ „ nach „ „ M g

Die Absorptionsflasche F_3 hat zugenommen $M - K = l$ g

Der Respirationskasten k mit der Ratte hat b g abgenommen.
Die Absorptionsflasche F_1 mit der Schwefelsäure hat e g zugenommen.
„ „ F_2 hat h g zugenommen.
„ „ F_3 „ l g „

b ist der Verlust des Gewichts der Ratte während des Versuchs.
e ist die in die Flasche F_1 übergegangene Wassermenge, die von der Ratte während des Versuches gebildet wurde.
h ist die von der Ratte während des Versuchs gebildete Menge CO_2.
l ist die Menge H_2O, die auf Kosten von h gebildet ist und darum als CO_2 gerechnet werden muß.

b ist der Verlust der Ratte.
e die Menge H_2O.
$h + l$ geben die Menge CO_2.

b Verlust der Ratte.
$h + l$ geben die Menge CO_2.
e = der Menge Wasser.
$e + h + l$ = der gesamten Zunahme der drei Flaschen F_1, F_2, F_3.
$h + l + e - b$ = der während des Versuches von der Ratte verbrauchten Menge O_2.

$\frac{(h - l) \times 1000}{Z \cdot G}$ = der pro Stunde und Kilo gebildeten Menge CO_2.

$\frac{(h + l + e - b) \times 1000}{Z \cdot G}$ = der pro Stunde und Kilo verbrauchten Menge O_2.

Der respiratorische Quotient wird durch die Formel $\frac{508{,}5\ CO_2\ g}{700\ O_2\ g} = R.Q.$ bestimmt.

Als Beispiel diene der 1. Versuch:

Der Kasten mit der Ratte wiegt vor dem Versuche . . . . . 865,34 g
„ „ „ „ „ „ nach „ „ . . . . . 865,09 g

Der Kasten mit der Ratte hat abgenommen: 865,34 — 865,09 = 0,25 g

Die Absorptionsflasche F_1 wiegt vor dem Versuche	883,17 g
" " " " nach " "	883,36 g
Die Absorptionsflasche F_1 hat zugenommen: 883,36 — 883,17 = 0,19 g	
Die Absorptionsflasche F_2 wiegt vor dem Versuche	715,17 g
" " " " nach " "	716,52 g
Die Absorptionsflasche F_2 hat zugenommen: 716,52 — 715,17 = 1,35 g	
Die Absorptionsflasche F_3 wiegt vor dem Versuche	852,04 g
" " " " nach " "	852,12 g
Die Absorptionsflasche F_3 hat zugenommen: 852,12 — 852,04 = 0,08 g	

Die gesamte Zunahme der drei Flaschen (F_1, F_2, F_3) = 0,19 + 1,35 + 0,08 = 1,62 g.

Die gebildete Menge CO_2 = 1,35 + 0,08 = 1,43 g.

Die verbrauchte Menge O_2 = 1,62 — 0,25 = 1,37 g.

Der respiratorische Quotient $= \frac{508{,}5 \cdot 1{,}43}{700 \cdot 1{,}37} = 0{,}757$.

Die Dauer des Versuches (Z) war 3 Stunden.

Die Ratte wog 92 g.

$\frac{1{,}43 \cdot 100}{3 \cdot 92} = 5{,}18$ die pro Stunde gebildete Menge CO_2 in g.

$\frac{1{,}37 \cdot 100}{3 \cdot 92} = 4{,}96$ die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2 in g.

Je stärker die Durchlüftung und je höher die Wasserdampftension (Temperatur und Barometerstand) ist, desto größer ist die Menge H_2O, die vom Respirationskasten in die Absorptionsflasche F_1 übergeht. Ob viel oder wenig H_2O in die Flasche F_1 vom Respirationskasten der Ratte übergegangen ist, bietet kein Anlaß zu Fehlern bei Feststellung der gebildeten Menge CO_2 und der verbrauchten Menge O_2. So z. B. nehmen wir an: beim Versuche habe der Respirationskasten mit der Ratte um b g abgenommen. Die Absorptionsflasche F_1 hat e g zugenommen.

Die von der Ratte gebildete Menge CO_2 ist $h + l$ g.

Die verbrauchte Menge O_2 ist $h + l + e - b$ g.

Nehmen wir einen anderen Versuch, wo der Respirationskasten der Ratte $b - x$ g abgenommen hat, dann hat die Absorptionsflasche F_1 um $e - x$ g zugenommen; in dem Falle $CO_2 = h + l$ g. $O_2 = h + l + (e - x) - (b - x)$ g oder $= h + l + e - x - b + x = h + l + e - b$ g. Also die Mengen CO_2 und O_2 bleiben auch in den beiden genannten Fällen gleich, unabhängig von der in die Flasche F_1 übergegangenen Menge Wasser.

Die Versuche, die in den Tabellen I und II niedergelegt sind, dienten in erster Linie dazu, um ein Urteil zu gewinnen, ob das Verfahren und das von mir benutzte Versuchstier sich eignete, um genauen Aufschluß über den respiratorischen Stoffwechsel in seiner Abhängigkeit von bekannten physiologischen Variablen zu erhalten. In erster Linie war es notwendig, sich

Tabelle I.

Die Versuche sind während des Tages gemacht.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R. Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	Art der Nahrung
1	865,34		883,17		715,17		852,04										15		Hafer
	865,09	0,25	883,36	0,19	716,52	1,35	852,12	0,08	1,62	1,43	1,37	0,757	3,0	92	5,18	4,96	15	21	
2	864,07		876,92		726,13		861,83										8		Hafer
	863,03	1,04	877,79	0,87	729,37	3,24	862,16	0,33	4,44	3,57	3,40	0,763	5,5	111	5,84	5,56	10	85	
3	821,76		876,80		695,18		859,90										15		Hundekuchen
	820,61	1,15	877,70	0,90	696,79	1,61	860,01	0,16	2,67	1,77	1,52	0,846	6,5	50	5,44	4,67	13	58	
4	854,71		881,06		707,85		860,77										15		Hundekuchen
	853,29	1,42	882,03	0,97	710,22	2,37	861,13	0,36	3,70	2,73	2,28	0,870	6,5	80	5,25	4,03	16	60	
5	844,68		886,34		706,82		853,00										15		Zucker
	844,17	0,51	886,51	0,17	707,99	1,17	853,05	0,05	1,39	1,22	0,88	1,007	4,0	60	5,08	3,66	17	12	
6	874,39		887,14		709,85		853,11										11		Zucker
	873,92	1,47	887,59	0,45	713,07	3,22	853,21	0,10	3,77	3,32	2,30	1,048	7,0	92	5,15	3,57	13	28	
													Die durchschnittlichen Werte:	81	5,32	4,40	14		

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuches, die zweite beim Schluß.

M bedeutet die gesamte Zunahme der drei Flaschen.

CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2.

O_2^a bedeutet die ganze verbrauchte Menge O_2.

CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO_2.

O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

Tabelle II.

Die Versuche sind während der Nacht gemacht.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R.Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	Art der Nahrung
7	866,18		878,31		702,20		860,18										12		Hafer
	863,12	3,06	881,06	2,75	707,85	5,65	860,77	0,59	8,99	6,24	5,93	0,764	14	95	4,61	4,45	16	78	
8	877,17		883,39		716,52		852,12										12		Hafer
	875,47	1,70	884,54	1,15	722,46	5,94	852,62	0,50	7,59	6,44	5,89	0,794	13	105	4,72	4,32	14	65	
9	854,99		885,40		701,55		852,89										13		Hundekuchen
	853,45	1,54	886,10	0,70	706,48	4,93	852,99	0,10	5,73	5,03	4,19	0,866	14	78	4,60	3,83	16	45	
10	882,67		877,72		696,88		860,09										11		Hundekuchen
	881,26	1,41	878,31	0,59	702,20	5,32	860,18	0,09	6,00	5,41	4,59	0,856	12	102	4,41	3,75	15	39	
11	862,90		882,82		704,65		852,00										9		Zucker
	861,21	1,69	883,17	0,35	709,15	4,50	852,22	0,22	5,07	4,72	3,38	1,014	14	84	4,01	2,87	10	31	
12	884,52		875,62		691,03		853,74										14		Zucker
	881,69	2,83	876,80	1,18	696,38	5,35	854,09	0,35	6,88	5,70	4,05	1,023	12	112	4,24	3,01	15	100	
Die durchschnittlichen Werte:														96	4,49	3,70	13		

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuches, die zweite beim Schluß.

M bedeutet die gesamte Zunahme der drei Flaschen.

CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2.

O_2^a bedeutet die ganze verbrauchte Menge O_2.

CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO_2,

O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

Tabelle III.

Die Versuche sind während der Nacht gemacht.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R. Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	
13	879,87		892,57		691,45		854,09										14		Diese Versuche sind an einer und derselben Ratte gemacht.
	879,34	0,53	893,04	0,47	693,24	1,84	854,16	0,07	2,38	1,91	1,85	0,749	7,0	97	2,81	2,72	15	35	
14	842,28		899,63		667,46		785,69										8		
	841,62	0,62	900,17	0,54	669,15	1,69	785,87	0,18	2,42	1,87	1,80	0,754	6,0	101	3,09	2,97	8	36	
15	887,04		893,04		698,08		854,16										15		
	886,45	0,59	893,58	0,54	699,95	1,87	854,33	0,17	2,58	2,04	1,99	0,744	7,0	104	2,78	2,70	16	35	
16	894,53		888,88		727,92		853,45										17		Diese Versuche sind an einer und derselben Ratte gemacht.
	894,20	0,33	889,16	0,28	729,97	2,05	853,48	0,03	2,36	2,08	2,03	0,743	7,0	115	2,53	2,52	18	35	
17	896,75		892,01		744,11		853,93										11		
	896,15	0,60	892,57	0,56	746,12	2,01	854,09	0,16	2,73	2,17	2,13	0,739	7,0	116	2,69	2,62	11	30	
18	902,02		890,51		737,44		853,67										9		
	901,47	0,55	890,99	0,48	739,70	2,26	853,73	0,06	2,80	2,32	2,25	0,748	7,5	119	2,75	2,66	10	33	
19	863,77		898,62		663,06		785,51										12		
	863,24	0,53	899,07	0,45	664,79	1,73	785,58	0,07	2,25	1,80	1,72	0,750	5,5	123	2,66	2,54	13	30	
Die durchschnittlichen Werte von den Versuchen N = 13, 14, 15 sind														100	2,89	2,79	13		
" " " " " " N = 16, 17, 18, 19 sind														118	2,67	2,58	13		

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuches, die zweite beim Schluß. M bedeutet die gesamte Zunahme der 3 Flaschen. CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2. O_2^a bedeutet die ganze verbrauchte Menge O_2. CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO^2. O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Tabelle IV.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R. Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	
20	910,54		889,16		729,97		853,48										17		Diese Versuche sind an einer und derselben Ratte gemacht.
	910,25	0,29	889,41	0,25	732,06	2,09	853,52	0,04	2,38	2,13	2,09	0,739	7	131	2,32	2,27	18	21	
21	908,03		888,64		725,72		853,42										14		
	907,76	0,27	888,88	0,24	727,90	2,18	853,45	0,03	2,45	2,21	2,18	0,736	7	132	2,33	2,36	14	25	
22	917,31		889,51		732,77		853,52										11		
	916,79	0,52	890,00	0,49	735,09	2,32	853,60	0,08	2,89	2,40	2,37	0,739	7	135	2,54	2,50	10	30	
23	923,72		890,00		735,09		853,60										11		
	923,15	0,57	890,51	0,51	737,44	2,35	853,67	0,07	2,93	2,42	2,36	0,744	7	141	2,45	2,39	12	28	
24	912,63		902,01		675,64		786,36										15		
	911,91	0,72	902,67	0,66	677,29	1,65	786,60	0,24	2,55	1,89	1,83	0,750	5	168	2,26	2,19	15	42	
25	936,99		901,29		672,53		786,12										11		
	936,58	0,41	901,65	0,36	674,16	1,63	786,24	0,12	2,11	1,75	1,70	0,748	4	194	2,25	2,18	13	29	
26	1019,28		898,07		660,78		785,44										16		
	1018,77	0,51	898,54	0,47	663,06	2,28	785,51	0,07	2,82	2,35	2,31	0,739	4	278	2,11	2,07	17	24	
27	1044,05		897,23		656,68		785,33										16		
	1043,58	0,47	897,66	0,43	659,03	2,35	785,39	0,06	2,84	2,41	2,37	0,738	4	305	1,97	1,94	16	26	
Die durchschnittlichen Werte von den Versuchen N = 20, 21, 22, 23:														135	2,42	2,38	13		

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuches, die zweite Zahl beim Schluß des Versuches. M bedeutet die gesamte Zunahme der drei Flaschen.

CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2.

O_2^a bedeutet die ganze verbrauchte Menge O_2.

CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO_2.

O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

davon zu überzeugen, daß die einer bestimmten Nahrung entsprechenden respiratorischen Quotienten zum Ausdruck gelangten. Dies war nun, wie meine Ergebnisse zeigten, durchaus der Fall. Nach einer Nahrung, die reichlich Eiweiß enthielt, z. B. Hafer und Hundekuchen, wurden respiratorische Quotienten erzielt von 0,87 bis 0,75. In vier Versuchen habe ich Zucker gegeben. Es war nicht ganz leicht, die Ratten zu zwingen, einen Tag lang ausschließlich von Zucker zu leben. Es gelang mir dies schließlich dadurch, daß ich die Ratten erst ein paar Tage lang hungern ließ und dann ihnen in einer Reibschale verriebenen Zucker zu fressen gab. Dabei erhielt ich Werte des respiratorischen Quotienten von 1,007, 1,048, 1,014 und 1,023. Hieraus geht hervor, daß die Methode in überaus feiner Weise die Stoffwechselprozesse wiederspiegelt.

Die in Tabelle I und II wiedergegebenen Versuche dienten auch dazu, den Einfluß von Tag und Nacht auf den Stoffwechsel zu untersuchen. Es zeigt sich, daß bei Tag pro Stunde und Kilo bei einer Ratte beispielsweise 5,32 g Kohlensäure gebildet und 4,40 g Sauerstoff verbraucht wird; bei Nacht betrugen diese Werte 4,49 g Kohlensäure und 3,7 g Sauerstoff. Der Respirationskasten ist zwar sehr klein, wenig geeignet für Bewegungen und deshalb sehr günstig für die Untersuchungen des Grundumsatzes. Tatsächlich verhielten sich die Ratten meist sehr ruhig. Aber immerhin blieben sie während der Nacht noch mehr im ungestörten Schlaf.

Da es sich darum handelte, den Grundumsatz der Ratten ohne die wechselnden Einflüsse der Nahrungsaufnahme und der Verarbeitung der Nahrung zu untersuchen, wurden alle nachfolgenden Versuche bei Tag 17 Stunden nach der letzten Mahlzeit angestellt.

Die in Tabelle III und IV niedergelegten Versuche sollten dazu dienen, namentlich den Einfluß der Umgebungstemperatur auf den respiratorischen Stoffwechsel der Ratten zu prüfen.

Diese Tabellen, noch mehr die Zeichnungen der Fig. 2 zeigen auf das deutlichste, wie mit fallender Temperatur die Kohlensäureausscheidung wächst. Hiermit ist eine auch mit anderweitigen Methoden und mit anderen Tieren gewonnene Erfahrung mit Hilfe der von mir benutzten Methode an Ratten bestätigt. Auch eine andere wohlbekannte Tatsache konnte

ich sowohl in diesen Versuchsreihen wie auch in denjenigen der Tabellen I und II in ausgesprochenster Weise wiederfinden.

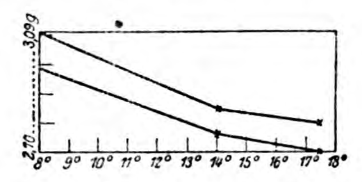


Fig. 2a. Die Versuche N = 13, 14, 15 mit einer Ratte.

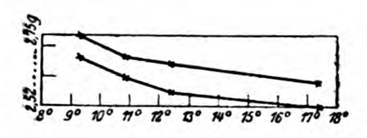


Fig. 2b. Die Versuche N = 16, 17, 18, 19 mit einer Ratte.

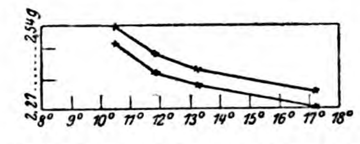


Fig. 2c. Die Versuche N = 20, 21, 22, 23 mit einer Ratte.

Es ist Tatsache, daß mit Abnahme des Körpergewichtes die pro Kilo und Stunde gebildete Kohlensäuremenge und verbrauchte Sauerstoffmenge wächst, d. h. daß der respiratorische Stoffwechsel stark ansteigt.

Ich habe die Ergebnisse dieser Untersuchung in Fig. 3 dargestellt. Die Ordinaten stellen die Körpergewichte in einer

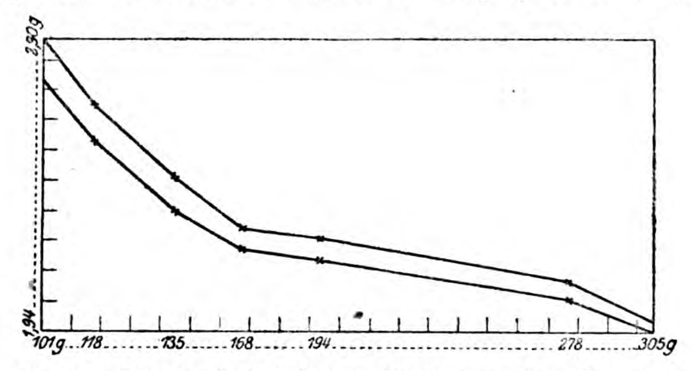


Fig. 3. Die durchschnittlichen Werte von den Versuchen N = (13, 14, 15), (16, 17, 18, 19), (20, 21, 22, 23) und die Werte von den Versuchen N = 24, 25, 26, 27.

Bemerkung: Die obere Linie in den Zeichnungen der vorliegenden Figuren 2a, b, c und 3 zeigt den Gang der CO-Menge pro Stunde und Kilo, die untere Linie den Gang der O_2-Menge pro Stunde und Kilo.

fallenden Reihe dar, die Ordinaten der oberen Kurve sind die Kohlensäuremengen pro Stunde und Kilo, die Ordinaten der unteren Kurve diejenigen der entsprechenden Sauerstoffmengen.

Eine Abhängigkeit des respiratorischen Stoffwechsels von den barometrischen Schwankungen während meiner Versuche konnte ich nicht feststellen.

Nachdem so durch umfassende Versuche ein Einblick in den respiratorischen Stoffwechsel der Ratten gewonnen war, konnte ich an meine Hauptaufgabe herangehen, den Grundumsatz milzloser Ratten zu untersuchen.

Bei jeder einzelnen Ratte, an der ich nach Wegnahme der Milz die Größe des Grundumsatzes bestimmen wollte, war vorher in einer ganzen Anzahl von Versuchen in der oben beschriebenen Weise der Grundumsatz ermittelt worden. Dann wurde zur Vornahme der Entmilzung geschritten.

Die Operation geschah meist nach subcutaner Injektion von 3 ccm einer 2%igen Morphiumlösung. Seltener wurde Äther angewandt, da sich Morphium als das bessere Narkoticum erwies. Die Operation geschah nach den Vorschriften der Antisepsis. Um an die Milz zu gelangen, wurde entweder ein Schnitt ventral parallel der letzten Rippe oder lateral rechtwinklig zur letzten Rippe ausgeführt. Der letztgenannte Schnitt ist vorzuziehen, weil bei der Luxation der Milz ein Heraustreten der Eingeweide sich vermeiden läßt und insbesondere die Pankreasdrüse nicht beschädigt wird. Der Schnitt braucht nicht länger als 1 bis 2 cm zu sein. Die Pflege der Tiere war nicht leicht, da ein unerwartetes Verhalten der Tiere eintrat. Gewöhnlich am vierten Tage begannen die im übrigen ganz gesunden Tiere an ihrer eigenen Wunde zu nagen, vermutlich wegen Juckgefühl. Hierbei zernagten sie erstlich Verbandgaze, dann die Haut und die Muskulatur, zwei Ratten haben sogar ihre Gedärme angefressen. Eine Reihe von Tieren ging auf diese Weise verloren, bis ich ein Verfahren ausgearbeitet hatte, um dem Übelstande zu begegnen. Dasselbe bestand darin, daß ich auf die Verbandgaze einen Drahtnetzverband aus Aluminium legte und denselben mit dünnem Draht über den ganzen Leib der Ratte fixierte. Manchmal mußte ich auch dazu schreiten, den Ratten eine Art von Maulkorb anzulegen.

Die Zeit, während der ich meine Versuche angestellt habe, war für dieselben keineswegs günstig. Denn wegen Mangel an Heizmaterial waren die Institutsräume nachts sehr kalt, und

ich verlor eine ganze Anzahl von Tieren infolge der Kälte. Die milzlosen Tiere waren noch mehr gefährdet als die normalen. Ich habe zum Schutz der operierten Tiere in der Nähe des Käfigs, in dem sie aufbewahrt wurden, mehrere Glühlampen aufgestellt. Durch geregelte intensive Bestrahlung gelang es mir, die schädlichen Kältewirkungen aufzuheben.

Trotz aller Pflege, trotz günstigen Wundverlaufs starben aber selbst diejenigen Tiere, die sich vollkommenen Wohlbefindens erfreuten, schon nach 9 oder 10 Tagen. Durch die Sektion konnte keine Todesursache festgestellt werden. Bis ganz kurze Zeit vor ihrem Tode waren die Tiere munter und fraßen ordentlich. Beobachtungen von anderen Autoren sowie diejenigen von Asher und seinen Mitarbeitern Großenbacher und Zimmermann haben ergeben, daß man Hunde nach der Entmilzung beliebig lange am Leben erhalten kann. Die letztgenannten Autoren konnten sogar das normale Wachstum jugendlicher milzloser Hunde feststellen. Nicht gering sind die Beobachtungen an milzlosen Kaninchen. Im Berner Institut haben Vogel und Sollberger lange Zeit milzlose Kaninchen in völligem Wohlbefinden beobachten können. Erst Dubois hat neben den durchaus gleichen Beobachtungen andererseits diejenige machen können, daß ohne jede nachweisbare Ursache nach 14 Tagen milzlose Kaninchen starben. Herr Dr. Dubois hat die Aufklärung dieser Tatsache in einer künftigen Arbeit in Aussicht genommen. Bei den Ratten scheinen aber die Verhältnisse etwas anders zu liegen. Denn Lepehne[1]) hat in einer für die Lehre von den Beziehungen zwischen Milz und Leber sehr wichtigen Arbeit gleichfalls beobachtet, daß milzlose Ratten längstens 10 Tage lebten. Er hat auch bemerkenswerte Veränderungen an der Leber und namentlich an der Niere aufdecken können, die durchaus geeignet sind, die kurze Lebensdauer milzloser Tiere zu erklären. Es ist Lepehne gelungen, die milzlosen Ratten durch Einspritzen von milchsaurem Eisen etwas länger am Leben zu erhalten. Ich durfte mich dieser Methode nicht bedienen, da ich dadurch voraussichtlich die Stoffwechselvorgänge des milzlosen Zustandes verändert hatte.

---

[1]) Georg Lepehne, Milz und Leber. Beiträge zur path. Anatomie und zur allg. Pathologie **64**, 55, 1917.

Tabelle V.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R.Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	Ist der Versuch vor oder an welchem Tage nach der Milzwegnahme gemacht?
16	894,53		888,88		727,92		853,45										17		Vor der Operation.
	894,20	0,33	889,16	0,28	729,97	2,05	853,48	0,03	2,36	2,08	2,03	0,743	7	115	2,58	2,52	18	35	
28	874,96		893,58		699,95		854,43										17		Am dritten Tage nach der Operation.
	874,35	0,71	894,15	0,57	701,80	1,85	854,49	0,06	2,58	2,01	1,87	0,780	7	91	3,24	2,93	17	36	
20	910,54		889,16		729,97		853,48										17		Vor der Operation.
	910,25	0,29	889,41	0,25	732,06	2,09	853,52	0,04	2,38	2,13	2,09	0,739	7	131	2,32	2,27	18	21	
29	911,73		894,15		693,30		854,49										17		Am dritten Tage nach der Operation.
	911,02	0,71	894,75	0,60	695,83	2,53	854,70	0,21	3,34	2,74	2,63	0,761	8	120	2,85	2,74	15	32	
30	906,58		895,10		668,00		854,40										17		Am fünften Tage nach der Operation.
	906,08	0,50	895,50	0,40	670,60	2,60	854,50	0,10	3,10	2,70	2,60	0,759	7	115	3,35	3,22	16	30	
24	912,63		902,01		675,64		786,36										15		Vor der Operation.
	911,91	0,72	902,67	0,66	677,29	1,65	786,60	0,24	2,55	1,89	1,83	0,750	5	168	2,26	2,19	15	42	
31	944,60		901,41		673,80		786,36										14		Am dritten Tage nach der Operation.
	943,90	0,70	902,00	0,59	676,00	2,20	786,48	0,12	2,91	2,32	2,21	0,760	5	160	2,90	2,76	16	40	
32	936,59		903,10		679,10		786,80										13		Am sechsten Tage nach der Operation.
	935,89	0,70	903,64	0,54	682,14	3,04	787,01	0,21	3,79	3,25	3,09	0,763	$5^2/_8$	152	3,77	3,59	13	41	
33	927,89		904,04		727,73		787,23										15		Am achten Tage nach der Operation.
	927,15	0,75	904,68	0,64	730,32	2,59	787,46	0,23	3,46	2,82	2,72	0,753	5	144	3,91	3,77	15	38	

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuches, die zweite beim Schluß des Versuches. M bedeutet die ganze Zunahme der drei Flaschen.

CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2. O_2^a bedeutet die ganze verzehrte Menge O_2.

CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO_2.

O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

Tabelle VI.

Nr.	K	b	F_1	e	F_2	h	F_3	l	M	CO_2^a	O_2^a	R. Q.	Z	G	CO_2^s	O_2^s	T	L	Ist der Versuch vor oder nach der Operation gemacht?
25	936,99		901,29		672,53		786,12										11		Vor der Operation.
	936,58	0,41	901,85	0,36	674,16	1,63	786,24	0,12	2,11	1,75	1,70	0,748	4	194	2,25	2,18	12	28	
34	962,13		902,67		677,29		788,60										16		Am dritten Tage nach der Operation.
	961,62	0,51	903,10	0,43	679,10	1,81	788,80	0,20	2,44	2,01	1,93	0,756	$4^1/_6$	178	2,71	2,60	15	29	
35	947,53		903,64		682,14		789,01										16		Am fünften Tage nach der Operation.
	947,03	0,50	904,04	0,40	684,07	1,93	789,23	0,22	2,55	2,15	2,05	0,761	$4^1/_3$	164	3,02	2,88	14	30	
36	950,49		904,68		674,08		787,46										15		Am siebenten Tage nach der Operation.
	949,79	0,70	905,28	0,60	676,93	2,15	787,53	0,07	2,82	2,22	2,12	0,760	4	160	3,46	3,31	16	32	

Bemerkungen: Die erste Zahl in den Kolonnen zeigt den Stand des Wertes beim Beginn des Versuchs, die zweite beim Schluß des Versuchs. **M** bedeutet die ganze Zunahme der drei Flaschen.

CO_2^a bedeutet die ganze gebildete Menge CO_2. O_2^a bedeutet die ganze verbrauchte Menge O_2.

CO_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo gebildete Menge CO_2.

O_2^s bedeutet die pro Stunde und Kilo verbrauchte Menge O_2.

Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

In den Tabellen V, VI und VII habe ich die Versuchsergebnisse niedergelegt, die ich an milzlosen Ratten gewonnen habe.

Tabelle VII.

Nr.	CO_2	O_2	Ist das Ergebnis vor oder an welchem Tage nach der Operation gemacht?
29	0,30	0,28	Vor der Operation.
29	0,34	0,33	Am 3. Tage nach der Operation.
30	0,39	0,37	„ 5. „ „ „ „
Schwelle:	0,09	0,09	
24	0,38	0,37	Vor der Operation.
31	0,46	0,44	Am 3. Tage nach der Operation.
32	0,57	0,54	„ 6. „ „ „ „
33	0,56	0,54	„ 8. „ „ „ „
Schwelle:	0,18	0,17	
25	0,44	0,42	Vor der Operation.
34	0,48	0,46	Am 3. Tage nach der Operation.
35	0,50	0,47	„ 5. „ „ „ „
36	0,55	0,53	„ 7. „ „ „ „
Schwelle:	0,11	0,11	

Erklärung: CO_2 in den Tabellen bedeutet die pro Stunde gebildete Menge CO_2 von einer Ratte (das Gewicht unberücksichtigt).
O_2 in den Tabellen bedeutet die pro Stunde verbrauchte Menge O_2 von einer Ratte (das Gewicht unberücksichtigt).
Die Gewichte sind in Gramm ausgedrückt.

In diesen Tabellen ist in jedem einzelnen Falle zunächst der Grundumsatz des normalen Tieres vor Entfernung der Milz angegeben, sodann der Grundumsatz nach Entfernung der Milz unter Berücksichtigung der Zeitdauer, die seit Entfernung der Milz vergangen war. Man erkennt sehr deutlich, daß bald nach Entfernung der Milz die ausgeschiedenen Kohlensäure- und die verbrauchten Sauerstoffmengen steigen und daß dieses Ansteigen von Tag zu Tag zunimmt.

Besonders deutlich wird dieses Ansteigen im Verlaufe der Zeit, wenn man dasselbe graphisch darstellt.

Die vier Zeichnungen der Fig. 4 geben wohl ein sehr anschauliches Bild von der Steigerung des Grundumsatzes milzloser Ratten. Man könnte nun denken, daß diese Steigerung des respiratorischen Stoffwechsels mit der Abnahme des Körpergewichtes im Zusammenhang stehe; denn tatsächlich sinkt das Körpergewicht der milzlosen Ratten. Aber die Erscheinungen

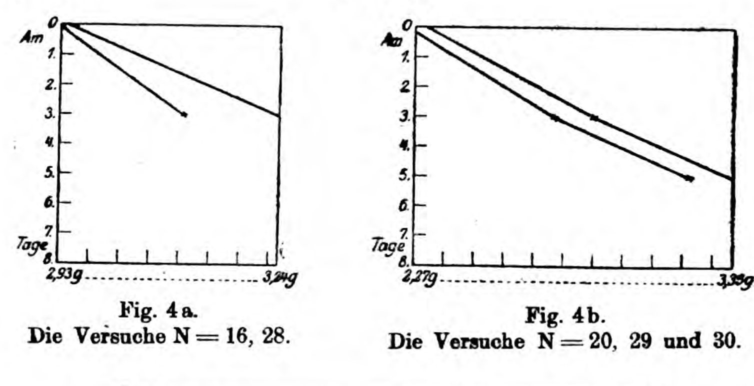


Fig. 4a.
Die Versuche N = 16, 28.

Fig. 4b.
Die Versuche N = 20, 29 und 30.

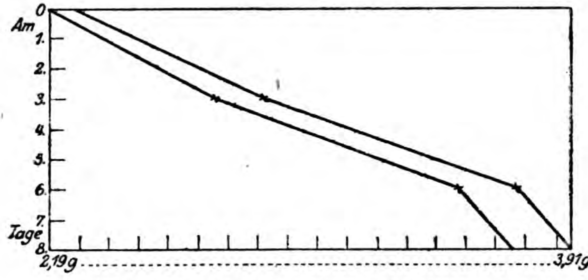


Fig. 4c. Die Versuche N = 24, 31, 32, 32.

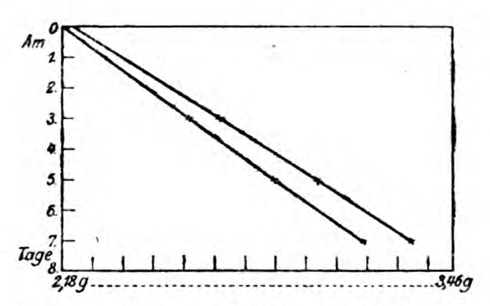


Fig. 4d. Die Versuche N = 25, 34, 35, 36.

Bemerkung. Die obere Linie in den Fig. 4a bis d zeigt den Gang der gebildeten pro Stunde und Kilo CO_2, die untere Linie den Gang der pro Stunde und Kilo verbrauchten Menge O_2.

gehen durchaus nicht parallel. Außerdem kann ich nachweisen, daß die absoluten Werte des respiratorischen Stoffwechsels wesentlich erhöht sind. Dies wird durch die Zahlen in der Tabelle VII gut bewiesen.

Die respiratorischen Quotienten bleiben jeweilig bei jeder

einzelnen Ratte vor und nach der Operation konstant. Diese Tatsache ist beachtenswert, weil sie einen doppelten Rückschluß gestattet. Erstens beweist sie, daß die Art der stofflichen Umsetzung durch die Entfernung der Milz nicht geändert worden ist. Zweitens geht daraus hervor, daß keine wesentliche Störung infolge der Operation entstanden ist, denn sonst müßte das Verhalten des respiratorischen Quotienten hiervon etwas verraten.

Es darf nach allem aus meinem Versuche der Schluß gezogen werden, daß die Entfernung der Milz zu einer Erhöhung des respiratorischen Stoffwechsels Veranlassung gibt. Der Weg zu dieser Erkenntnis war durch die früher genannten Arbeiten des Berner Institutes gebahnt; jetzt liegt der unmittelbare Beweis durch genaue respiratorische Stoffwechselversuche vor.

Ich muß noch zum Schluß auf eine Tatsache aufmerksam machen, die ich gelegentlich meiner Versuche beobachtet habe. Bei der Herausnahme der normalen Ratten aus der Respirationskammer war das Tier trocken, und die Wände zeigten nur einen geringen Flüssigkeitsbeschlag. Ganz anders verhielten sich die Dinge nach Herausnahme der milzlosen Ratten. Die Tiere waren immer mit Schweiß bedeckt, die Haare oft am Leibe verklebt, die Wandung des Kastens voll Wassertropfen, und am Boden des Kastens befand sich viel Urin. Auch sonst konnte ich beobachten, daß die milzlosen Ratten mehr Harn absonderten als die normalen. Aus diesen Beobachtungen scheint mir hervorzugehen, daß die Entfernung der Milz eine Vergrößerung der Ausscheidung des Wassers auf dem Wege der Niere und der Haut hervorruft.

Die Beobachtungen, die ich in dieser Arbeit mitgeteilt habe, lehren, daß die Entfernung der Milz eine Erhöhung des respiratorischen Stoffwechsels und der Ausscheidung des Wassers hervorruft. Diesen Tatbestand könnte man auch so ausdrücken, daß das Vorhandensein der Milz eine gewisse Hemmung der beiden Funktionen verursacht. Sowie man die Dinge von diesem Standpunkte aus betrachtet, drängen sich Beziehungen der Schilddrüse auf, Beziehungen, für die ja schon durch die Arbeiten von Dubois, Streuli und Yamada im Berner Institut beweisendes Material beigebracht worden ist. Schild-

drüse und Milz wirken geradezu antagonistisch auf den Stoffwechsel wie auch auf den Flüssigkeitswechsel im Organismus.

Das eine Organ wirkt fördernd, das andere Organ wirkt hemmend. Genau umgekehrt wirkt natürlich die Entfernung eins der beiden Organe. Man könnte sich sogar fragen, ob nicht Erscheinungen, die man bisher ausschließlich auf die Wegnahme der Schilddrüse zurückgeführt hat, zum Teil auch auf der antagonistischen Funktion der Milz beruhen. Entfernung der Schilddrüse verursacht eine merkliche Verminderung des Stoffwechsels. Da aber die Milz im Organismus zurückgeblieben ist und diese selbst eine hemmende Wirkung auf den Stoffwechsel besitzt, muß infolge hiervon die Herabsetzung des Stoffwechsels noch größer wirken. Umgekehrt veranlaßt die Entfernung der Milz eine Erhöhung des Stoffwechsels; wiederum muß diese Erhöhung zum Teil auf das Überwiegen der Funktion der Schilddrüse zurückgeführt werden. Was den Flüssigkeitswechsel anlangt, so gelten die gleichen Erwägungen.

Die Betrachtung, zu der meine Versuche geführt haben, weisen erneut auf die allgemeinphysiologische Bedeutung des Wechselspiels antagonistischer Art einzelner Organe hin. Die Dinge liegen ähnlich wie bei den antagonistischen Nerven, nur viel komplizierter. Denn die gleichen Organe können mit Rücksicht auf gewisse Funktionen antagonistisch, mit Rücksicht auf andere synergisch sein.

Der wesentliche Inhalt meiner Arbeit läßt sich in folgende Sätze zusammenfassen:

1. Die Methode von Haldane zur Untersuchung des respiratorischen Stoffwechsels wurde für Ratten ausgearbeitet und erwies sich für diese als eine sehr genaue.

2. Ratten sind Tiere, die recht geeignet sind, um wichtige Fragen des respiratorischen Stoffwechsels zu prüfen. So konnte an denselben die Erfahrung bestätigt werden, daß die Größe des Grundumsatzes pro Kilo Körpergewicht und die Zeiteinheit bei kleinen Tieren größer ist als bei großen; ferner daß mit sinkender Außentemperatur die Größe des Grundumsatzes steigt. Schließlich konnten die jeder Ernährungsweise entsprechenden respiratorischen Quotienten genau ermittelt werden.

3. Nach Entfernung der Milz war der Grundumsatz von

Ratten erheblich gesteigert; von Tag zu Tag nach der Operation wuchsen die Mengen gebildeter Kohlensäure und verbrauchten Sauerstoffs. Da die respiratorischen Quotienten vor und nach der Operation die gleichen blieben, handelt es sich nicht um eine qualitative, sondern um eine quantitative Änderung des Stoffwechsels.

4. Es ist der definitive, unmittelbare Beweis geliefert worden, daß das Vorhandensein der Milz den respiratorischen Stoffwechsel hemmt, ihre Wegnahme ihn fördert. Hiermit tritt die Milz in antagonistische Beziehung zur Schilddrüse, von der das Umgekehrte gilt. Auch mit Rücksicht auf den Flüssigkeitswechsel gelten die gleichen Beziehungen. Im Licht dieser Tatsache müssen die Erscheinungen, die man entweder auf das Funktionieren oder auf das Fehlen nur eines der beiden Organe zurückführte, immer auch in Beziehungen gebracht werden zu dem andern Organe.

5. Die Schlüsse, zu denen die Arbeiten von Dubois, Streuli und Yamada geführt haben, werden durch diese Arbeit auf eine neue Weise bestätigt.

Über die quantitative Bestimmung von geringen Zuckermengen bei Gegenwart von höheren und niederen Eiweißabbauprodukten.

Von

Erwin Last.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 27. September 1918.)

(Mit 4 Tabellen im Text.)

Bei biochemischen Fragestellungen kommt man häufig in die Lage, kleine Mengen von Zucker neben Eiweiß und Eiweißabbauprodukten zu bestimmen. Die Bestimmung von Zucker neben nativem Eiweiß gelingt gut, da wir mehrere vorzügliche Eiweißfällungsmittel kennen. Dagegen ist die Bestimmung von Zucker neben höheren und niederen Eiweißabbauprodukten immer noch mit großen Schwierigkeiten verbunden, da für die quantitative Beseitigung der Eiweißabbauprodukte keine so genau ausgearbeiteten und allgemein gültigen Methoden bekannt sind.

Enthalten die Lösungen der Eiweißabbauprodukte größere Mengen von Zucker, so kann derselbe nach dem sehr genauen Verfahren von Neuberg und Ishida[1]) auf polarimetrischem Wege bestimmt werden. Die optische Methode hat vor den Reduktionsmethoden den Vorzug der Schnelligkeit der Ausführung. Sie erfordert aber bei gleicher Genauigkeit kostspielige Polarisationsapparate, besonders wenn es sich um die Bestimmung geringer Zuckermengen handelt, wie es bei physiologischen Problemen der Fall ist.

---

[1]) Neuberg u. Ishida, diese Zeitschr. **37**, 142.

Um eine sichere Grundlage für die Bestimmung von Traubenzucker auf titrimetrischem Wege bei Gegenwart von Albumosen, Peptonen und Aminosäuren zu gewinnen, habe ich auf Veranlassung von Privatdozent Dr. Abelin in einer größeren Zahl von Versuchen diese Frage einem näheren Studium unterzogen.

Die Zuckerbestimmung erfolgte ausschließlich nach der ebenso genauen wie bequemen Methode von Bertrand. Auf die Einzelheiten dieser Methode soll hier nicht näher eingegangen werden. Die Methode ist sehr ausführlich in mehreren Hand- und Methodenbüchern[1]), sowie auch in vielen Arbeiten beschrieben worden. Ich arbeitete nach den Angaben der früher im hiesigen Institute ausgeführten Untersuchung von Tschannen[2]). Sämtliche Resultate stellen Mittelwerte aus 3, selten 2, gewöhnlich gut miteinander übereinstimmenden Titrationen dar. Das zu den Ausgangslösungen hinzugesetzte Quantum Zucker (Glucose) wurde auf zweierlei Weise bestimmt: Entweder wurde eine bestimmte Menge des gut getrockneten Traubenzuckers genau gewogen und der zu untersuchenden Eiweißlösung zugesetzt, oder es wurde ein Kontrollversuch angestellt, d. h. der Zucker wurde mit der Handwage abgewogen, in Meßkolben in einem bekannten Volumen Wasser aufgelöst und dieser Zuckerlösung zwei gleich große Portionen entnommen. Zur einen Portion wurde das betreffende Eiweißabbauprodukt zugesetzt, enteiweißt und der Zuckergehalt bestimmt, in der zweiten Portion wurde der Zucker ohne Eiweißzusatz ermittelt, wobei natürlich die Versuchsanordnung immer z. B. in bezug auf die Verdünnungen die gleiche war. Die Differenz beider Werte ergibt den durch Zusatz der Eiweißsubstanz bedingten Analysenfehler.

Der störende Einfluß der Eiweißabbauprodukte auf die Genauigkeit der Zuckerbestimmung nach der Titrationsmethode macht sich erst bei einer gewissen Konzentration dieses Abbauproduktes geltend. Ist z. B. die Menge des Eiweißspaltungsproduktes gering, so gelingt es, bei sorgfältigem Arbeiten ganz brauchbare Resultate zu erhalten. Allerdings wird man auch in solchen Fällen vorziehen, das Eiweißabbauprodukt zu be-

[1]) Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden 2, 181.

[2]) Tschannen, diese Zeitschr. 59, 3. u. 4. Heft.

seitigen, da die Ausfällung des Kupferoxyduls aus der Lösung durch Albumosen, Pepton, Erepton u. a. mehr oder weniger beeinträchtigt wird. Man erhält dabei gewöhnlich den Kupferoxydulniederschlag nicht in der roten, gut filtrierbaren Form, sondern in der außerordentlich feinen, mehr gelb aussehenden, sehr schwer filtrierbaren Modifikation. Auf den störenden Einfluß der Eiweißabbauprodukte bei der Abscheidung des Kupferoxyduls hat bereits C. Neuberg[1]) hingewiesen.

Um einen Einblick zu gewinnen, welche Peptonkonzentrationen die Zuckerbestimmung deutlich stören, habe ich in einigen Versuchen den Traubenzucker bei Anwesenheit von verschieden großen Mengen Pepton ohne jede Enteiweißung bestimmt. Die Versuchsanordnung und Ausführung ist aus den unten angegebenen Protokollen der Versuche 1, 2 und 3 ersichtlich. Die Resultate sind in der Tabelle I zusammengestellt.

Protokoll der Versuche 1, 2 und 3.

Versuch 1. Methode: Keine Enteiweißung. In 100 ccm dest. Wassers werden 0,25 g Witte Pepton und 0,0999 g Glucose, genau gewogen, gelöst. Von dieser Lösung werden dreimal je 25 ccm genau abpipettiert und an ihnen die Zuckerbestimmung nach Bertrand ausgeführt. Bei der Titration wurden bei Probe I 4,8 ccm, Probe II 5,08 ccm, Probe III 5,1 ccm Kaliumpermanganatlösung verbraucht, im Mittel also 4,993 ccm. Der Titer der dabei verwendeten Kaliumpermanganatlösung ist 0,009806, d. h. 1 ccm der $KMnO_4$-Lösung entspricht 0,009806 g Cu. In den untersuchten 25 ccm der Ausgangslösung sind 0,0246 g Glucose enthalten, somit in 100 ccm 0,09842 g Glucose.

Der Lösung zugesetzt wurden	0,0999 g	entspr.	0,0999 %,
analytisch gefunden wurden	0,09842 „	„	0,09842 %,
Differenz	0,0015 g	entspr.	0,0015 %.

Versuch 2. Methode: Keine Enteiweißung. 1,2043 g Glucose (genau gewogen) wurden in 150 ccm Wasser gelöst, davon 25 ccm abpipettiert und zu einer 0,75%igen Witte-Peptonlösung gegeben und auf 100 ccm genau aufgefüllt. Dieser zweiten Eiweißzuckerlösung werden dreimal je 25 ccm entnommen und analog dem Versuch 1 die Bertrandsche Zuckerbestimmung vorgenommen. Der Titer ist 0,010012. Probe I 9,65 ccm, Probe II 9,55 ccm, Probe III 9,60 ccm. In den untersuchten 25 ccm waren 50,42 mg Glucose, also in der Ausgangslösung 1,21008 g Glucose.

Gefunden . . .	1,21008	entspr. einer	0,802%igen	Lösung
Zugesetzt . . .	1,2043	„	„ 0,806	„ „
Differenz . .	— 0,005		0,004%	

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **43**.

Versuch 3. Methode ohne Enteiweißung. 0,5989 g Glucose (genau gewogen) und in 150 ccm Wasser gelöst. Zu 50 ccm dieser Lösung wird 1 g Pepton zugesetzt und auf 100 ccm aufgefüllt. An drei Proben zu je 25 ccm wird die Zuckerbestimmung ausgeführt. Der Titer beträgt 0,010012. Probe I 9,1 ccm, Probe II 9,2 ccm, Probe III 9,15 ccm $KMnO_4$ verbraucht, Mittel 9,15 ccm.

Zugesetzt	0,5989 g	Glucose
Gefunden	0,5745 „	„
Differenz	0,0244 g	„

Man sieht, daß mit zunehmendem Gehalt der Zuckerlösung an Pepton der Analysenfehler größer wird; während er bei einer $^1/_4$ $^0/_0$igen Peptonlösung nur 5 mg Zucker beträgt, steigt er bei einer 1 $^0/_0$igen Peptonlösung auf 24,4 mg.

Tabelle I.

Versuche 1, 2, 3.

Versuchs-Nr.	Methode	Prozentgehalt der Ausgangslösung an Eiweißspaltungsprodukten	Kaliumpermanganatlösung		Zucker zugesetzt		Zucker gefunden		Differenz(fehler)		Biuretreaktion
			25 ccm der Zuckerlösung verbrauchen bei der Titration ccm $KMnO_4$ in ccm Mittelwert	1 ccm $KMnO_4$-Lösung entsprechend g Cu	in g	in $^0/_0$ der Lösung	in g	in $^0/_0$ der Lösung	in g	in $^0/_0$ der Lösung	
1	ohne Enteiweißung	0,25 $^0/_0$ Witte-Pepton	4,933	0,009	0,0999	0,0999	0,0984	0,0984	— 0,0015	— 0,0015	+
2	dto.	0,75 $^0/_0$ Witte-Pepton	9,60	0,010	1,2043	0,802	1,2100	0,806	+ 0,005	+ 0,004	+
3	dto.	1,0 $^0/_0$ Witte-Pepton	9,15	0,010	0,5989	0,392	0,5745	0,383	— 0,0244	— 0,009	+

Aus obigen Versuchen ergibt sich, daß bei Anwesenheit geringer Peptonmengen der Traubenzucker sich mit befriedigender Genauigkeit bestimmen läßt. Sind aber größere Peptonmengen vorhanden, so müssen diese unbedingt vor der Zuckerbestimmung gefällt werden. Die Ergebnisse dieser Versuche stimmen mit den Befunden von C. Neuberg[1]) überein. Neuberg gibt an, daß die Zuckerbestimmung nach Bertrand ohne vorherige Ausfällung der Eiweißabbauprodukte undurchführbar ist, wenn die Quantität der Peptone die Menge des vorhandenen Zuckers um etwa das 5fache übersteigt. Das Ammoniak,

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 43.

die Diaminosäuren und das Cystin wirken dabei besonders störend.

Meine nächste Aufgabe bestand darin, ein geeignetes Fällungsmittel für die peptonhaltigen Lösungen ausfindig zu machen. In der überwiegenden Mehrzahl meiner Versuche handelte es sich um „Peptonum siccum Witte", das ein Gemisch von Albumosen und Peptonen darstellt. Solche Gemische lassen sich bekanntlich nur sehr schwer quantitativ enteiweißen, da die meisten Eiweißfällungsmittel nur unvollständige Fällungen erzeugen.

So werden z. B. die Peptone von Gerbsäure, Trichlor-Essigsäure, Jodquecksilber, Jodkalium usw. nur teilweise gefällt. Zwar kann die Fällbarkeit der Peptone durch Hinzufügen von sehr viel Salz erhöht werden[1]), diese Methode ist aber für die Zuckerbestimmung aus manchen Gründen nicht geeignet. Nach Siegfrid lassen sich die Peptone in ammonsulfatgesättigter Lösung durch Ferriammoniumsulfat fällen. Kossel und Weiß[2]) fällen das Pepton in kochsalzgesättigter Lösung mit Gerbsäure, während Pick[3]) die Fällung mit Jodjodkalium und Salzsäure in ammonsulfatgesättigter Lösung bewirkt. Bei der Kostspieligkeit und der gegenwärtigen Seltenheit des Alkohols konnte ich auch diesen nicht als Fällungsmittel benutzen. Das Abdampfen des Alkohols wäre auch mit sehr großem Zeitverlust verbunden. Abgesehen davon erschien mir der Alkohol als Eiweißfällungsmittel bei den Zuckerbestimmungen noch aus dem Grunde ungeeignet, weil nach einer privaten Mitteilung von Herrn Prof. L. Asher, nach dem Verjagen des Alkohols, die zurückgebliebene Flüssigkeit sehr lästige Trübungen aufweist, die bei der Zuckerbestimmung störend wirken.

Keines dieser Verfahren kam für meine Versuche in Betracht, und ich versuchte zuerst das albumosehaltige Pepton durch Sublimat und Salzsäure nach der Methode von Schenk[4]) auszufällen. Dieses sonst vorzügliche Enteiweißungsmittel versagt aber bei Gegenwart von Albumosen und Peptonen. Bereits meine ersten Versuche nach Schenk haben gezeigt, daß die Salzsäure der Fällung entgegenwirkt. Wird z. B. eine Witte-Peptonlösung nach den Angaben von Schenk mit $2\,^0/_0$iger Salzsäure angesäuert und mit $5\,^0/_0$iger Sublimatlösung versetzt, so entsteht nur eine mäßige Fällung. Der Grund liegt darin,

---

[1]) W. Kühne, Zeitschr. f. Biol. **29**, 320. — O. Cohnheim und Krieger, Zeitschr. f. Biol. **40**, 95.

[2]) Kossel u. Weiß, Zeitschr. f. physiol. Chem. **68**, 165.

[3]) E. P. Pick, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**, 246.

[4]) F. Schenk, Arch. f. d. ges. Physiol. **55**, 203.

daß die Sublimatfällung in Säuren z. T. löslich ist. Wird z. B. die Peptonlösung nur mit Sublimat versetzt, so entsteht ein dicker Niederschlag, der aber auf Zusatz von Salzsäure zum Teil wieder in Lösung geht. Sublimat und Essigsäure geben ebenfalls kein befriedigendes Resultat. Viel aussichtsreicher erwies sich die Fällung mit Sublimat bei neutraler Reaktion, allerdings unter der grundsätzlichen Bedingung, daß jeder Überschuß von Quecksilberchlorid vermieden wird. Um die richtigen Mengenverhältnisse herauszufinden, habe ich in einer ganzen Reihe von Versuchen, deren einige im Protokoll 2 angeführt sind, die zuckerhaltige Pepton-Albumoselösung mit steigenden Mengen von Sublimat versetzt und jedesmal den Zucker quantitativ bestimmt. Die besten Resultate erhielt ich bei einem Zusatz von 80 ccm $5^0/_0$iger Sublimatlösung zu einer Lösung von 2 g Pepton und 1 g Zucker in 100 ccm Wasser. Diese Mengenverhältnisse verwendete ich bei meinen späteren Versuchen. Inwieweit das Pepton dabei wirklich quantitativ gefällt wird, möchte ich nicht entscheiden, da im Filtrate der Peptonsublimatfällung die Biuretreaktion durchwegs positiv war. Diese biuret gebenden Substanzen störten aber die Zuckerbestimmung nicht. Nach den Untersuchungen von C. Neuberg und Kerb[1]) ist das Mercuriacetat ein sehr gutes Fällungsmittel für Aminosäuren und Peptone. Bei schwach sodaalkalischer Reaktion werden dabei die Eiweißspaltungsprodukte beinahe quantitativ niedergeschlagen.

Die Brauchbarkeit des Sublimats als Fällungsmittel für albumosehaltige Peptone in neutraler Lösung ergibt sich auch aus nachfolgenden Versuchen, deren Ausführung im Prinzipe folgendem Schema folgte: ca. 2 g Witte-Pepton und ca. 1 g (genau gewogen) Traubenzucker wurden in einem 250 bis 300 ccm fassenden Meßkolben in 100 ccm Wasser gelöst, allmählich mit 80 ccm $5^0/_0$iger $HgCl_2$-Lösung versetzt, eine halbe Stunde stehen gelassen und mit dest. Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Darauf wurde die Lösung gut umgeschüttelt, durch ein trockenes Filter in einen trockenen Kolben filtriert und in das Filtrat Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis kein Niederschlag mehr entstand, was in ca. 20 Minuten der Fall war. Das Quecksilber-

[1]) Neuberg und Kerb, diese Zeitschr. 40 u. 67.

sulfid wurde abfiltriert und das Filtrat durch einen Luftstrom (unter der Wasserstrahl-Luftpumpe) vom Schwefelwasserstoff befreit. In einem Teil der wasserklaren Flüssigkeit wurde dann der Zucker nach Bertrand bestimmt. Wie erwähnt, läßt sich auf diese Weise kein biuretfreies Filtrat herstellen. Um die Ausfällungen zu vervollständigen, habe ich nach dem Vorschlag von C. Neuberg und M. Ishida[1]) für die optischen Bestimmungen die von Quecksilberchlorid befreite Lösung mit 0,5 %iger Phosphorwolframsäure versetzt. Nach dem Abfiltrieren des Phosphorwolframsäureniederschlages gab die Lösung zwar keine Biuretreaktion mehr, aber die Genauigkeit der Zuckerbestimmung nahm durch diese Operation nicht zu, so daß ich von einer nachträglichen Fällung mit Phosphorwolframsäure abgesehen habe.

Die Resultate dieser Sublimatversuche sind in untenstehenden Protokollen angeführt und in Tabelle II zusammengefaßt.

Protokolle der Versuche 4 und 5b.

Methode: Enteiweißung mit Sublimat. 0,4999 g Glucose (genau gewogen) wurden zusammen mit 2 g Witte-Pepton in 150 ccm Wasser gelöst, dazu 80 ccm einer 5 %igen Sublimatlösung und diese Mischung auf 250 ccm genau aufgefüllt; hierauf wurde an drei Proben von je 25 ccm des Hg-freien Filtrates die Zuckerbestimmung nach Bertrand ausgeführt. Der Titer der $KMnO_4$-Lösung ist 0,0095182; verbraucht wurde bei Probe I 10,25 ccm, Probe II 10,20 ccm, Probe III 10,10 ccm $KMnO_4$, im Mittel 10,17 entspr. 50,28 mg Zucker, d. h. in 250 ccm 0,5082 g Glucose.

Zugesetzt . .	0,4999 g	Glucose	entspr.	0,3332 %	der	Lösung
Berechnet . .	0,5082 „	„	„	0,3388 %	„	„
Differenz . .	+ 0,0083 g	„	„	0,0056 %	„	„

Der Analysenfehler beträgt 0,0056 %.

Versuch 5b. Methode: Enteiweißung mit Sublimat unter Zusatz von 0,5 %iger Phosphorwolframsäure. 0,5043 g Glucose und 2 g Witte-Pepton werden in 100 ccm Wasser gelöst, dazu 170 ccm 5 %ige $HgCl_2$-Lösung und das Ganze auf 300 ccm aufgefüllt. Vom enteiweißten Filtrat wurden 4 Proben zu je 25 ccm entnommen und die Zuckerbestimmung nach Bertrand ausgeführt. Eine Probe wird mit 0,5 %iger Phosphorwolframsäure vor der Zuckerbestimmung behandelt. Probe I 8,55 ccm, Probe II 8,75 ccm, Probe III 8,60 ccm $KMnO_4$ verbraucht. Probe IV (mit Phosphorwolframsäure) 8,70 ccm. Der Titer ist 0,009806.

a) Ohne Phosphorwolframsäurezusatz im Mittel 8,63 ccm $KMnO_4$ verbraucht, entspr. 0,52740 g Glucose.

[1]) Neuberg u. Ishida, diese Zeitschr. **37**, 142.

Zugesetzt . . . . 0,5043 g = 0,5043 %
Gefunden . . . . 0,5274 „ = 0,5274 %

Differenz . . . . . . + 0,0231 g = 0,0231 %

Analysenfehler 0,0231 %.

b) Mit Phosphorwolframsäurezusatz. Im Mittel 8,70 ccm $KMnO_4$ verbraucht, entsprechend 0,5322 g Glucose.

Zugesetzt . . . . 0,5043 %
Gefunden . . . . 0,5322 %

Differenz . . . . 0,0279 %

Analysenfehler 0,0279 %.

Tabelle II.

Versuchs-Nr.	Methoden	Prozentgehalt der Ausgangslösung an Eiweißspaltungsprodukten	$KMnO_4$-Lösung		Zucker zugesetzt		Zucker gefunden		Differenz		Biuretreaktion nach dem Enteiweißen
			25 ccm d. eiweißfreien Filtrates verbraucht. bei der Titration im Mittel ... ccm $KMnO_4$	1 ccm $KMnO_4$-Lösung entspricht ... g Cu	in g	in % der Ausgangslösung	in g	in % der Ausgangslösung	in g	in % der Ausgangslösung	
4	Enteiweißung mit Sublimat	Witte-Pepton 2 %	10,17	0,00951	0,4999	0,3332	0,5082	0,3388	0,0083	0,0056	+
5a	dto.	dto.	in 10 ccm 3,3	0,00952	0,5038	0,5038	0,4681	0,4681	0,0357	0,0357	+
5b	dto.	dto.	8,70	0,00980	0,5043	0,5043	0,5322	0,5322	0,0279	0,0279	+
6	dto.	dto.	7,20	0,00980	1,3032	0,8688	1,2862	0,8574	0,0170	0,0114	+
7	dto.	dto.	6,71	0,00998	1,2697	0,8464	1,2365	0,8243	0,0331	0,0221	+
8	dto.	dto.	8,116	0,00998	1,2611	0,8407	1,2588	0,8392	0,0023	0,0015	+
9	dto.	dto.	8,18	0,00998	1,2891	0,8594	1,2694	0,8463	0,0196	0,0131	+

Um die Resultate bei der Enteiweißung mit Sublimat mit den Ergebnissen der Anwendung anderer Fällungsmethoden vergleichen zu können, habe ich in einer Reihe von Versuchen die Beseitigung des Albumose-Peptongemisches nach den Angaben von Patein und Dufau vorgenommen. Die Versuchsanordnung war folgende:

Ca. 2 g Witte-Pepton und 0,4089 g Traubenzucker wurden in einem 250 ccm fassenden Meßkolben in 100 ccm Wasser gelöst, die Lösung tropfenweise unter Umrühren mit 30 ccm kalt gesättigter Quecksilbernitratlösung versetzt, 15 Minuten stehen gelassen und mit 33 %iger Natronlauge bis zur eben schwach sauren Lösung versetzt (dazu ver-

braucht man ca. 10 ccm 33 %iger Natronlauge). Ein etwaiger beim Neutralisieren entstandener Überschuß an Alkali muß sofort durch 10 %ige Essigsäure entfernt werden! Darauf wurde der Kolbeninhalt auf 250 ccm mit dest. Wasser aufgefüllt, der gelbe Niederschlag abfiltriert, das Filtrat vom Quecksilbersalz durch Einleitung von Schwefelwasserstoffgas befreit. Nun wird auch vom Quecksilbersulfidniederschlag abfiltriert und das Filtrat vom Schwefelwasserstoff unter der Wasserstrahlluftpumpe befreit.

25 ccm des erhaltenen Filtrates verbrauchten bei der Titration 8,35 ccm $KMnO_4$-Lösung. Probe II 8,35, Probe III 8,40 ccm, Mittel 8,35 ccm.

1 ccm der $KMnO_4$-Lösung entspricht 9,5182 mg Cu.

Zucker zugesetzt . . .	0,4089 g	= 0,4089 %
Gefunden	0,4083 „	= 0,4083 %
Differenz	0,0006 g	= 0,0006 %

Analysenfehler 0,0006 %.

In analoger Weise wurden auch die übrigen Versuche ausgeführt. Die Resultate sind aus Tabelle III zu entnehmen.

Tabelle III.

Versuchs-Nr.	Methode	Prozentgehalt der Ausgangslösung an Eiweißspaltungsprodukten	$KMnO_4$-Lösung: 25 ccm des eiweißfreien Filtrates verbrauchten bei d. Titration im Mittel . . . ccm $KMnO_4$	$KMnO_4$-Lösung: 1 ccm $KMnO_4$-Lösung entspricht . . . g Cu	Zucker zugesetzt: in g	Zucker zugesetzt: in % der Ausgangslösung	Zucker gefunden: in g	Zucker gefunden: in % der Ausgangslösung	Differenz: in g	Differenz: in % der Ausgangslösung	Biuretreaktion nach der Enteiweißung
10	Patein-Dufau	2 % W.-Pept.	8,35	0,00952	0,4089	0,4089	0,4083	0,4083	0,006	0,006	—
11	Patein-Dufau	dto.	6,883	0,00980	1,0363	0,6908	1,0363	0,6908	0,00	0,00	—
12	Patein-Dufau	2 % Pept. e carne	7,83	0,00998	1,2278	0,818	1,2244	0,816	0,0033	0,002	—
13	Schenk (Sublim.)	dto.	8,40	0,00998	1,3200	0,880	1,2901	0,860	0,0299	0,02	+

Wie aus Tabelle III hervorgeht, erhält man bei der Zuckerbestimmung nach der Fällung mit Quecksilberfiltrat sehr gute Resultate, die in einigen Versuchen besser waren als die nach der Sublimatmethode ausgeführten. Dennoch ist der Unterschied nicht sehr erheblich und liegt noch im Rahmen der üblichen Fehlerquellen. In dem Versuch 12 kam an Stelle von Wittes Pepton Peptonum e carne „Merck“ zur Anwendung, das eine andere Zusammensetzung hat. Aber auch bei diesem

Präparat hat sich die Sublimatfällungsmethode bewährt. In einem Parallelversuch 12 und 13 wurde einmal mit der Quecksilbernitratfällung, das andere Mal mit der Sublimatfällung das Eiweiß entfernt. Im Filtrate beider Fällungen konnte der Zucker genau ermittelt werden. Die beiden Filtrate zeigten aber folgenden Unterschied: Im Filtrat der Quecksilbernitratfällung war die Biuretreaktion stets negativ, im Filtrat der Sublimatfällung dagegen stets positiv, ein Beweis, daß die Ausfällung mit Quecksilbernitrat die vollständigere ist.

Versuche unter Anwendung von Erepton.

In den folgenden Versuchen wurde der Einfluß des Ereptons auf die Traubenzuckerbestimmung näher studiert. Ich habe das Erepton gewählt, weil es im Gegensatz zu den früher behandelten Albumosen- und Peptongemischen ein tief abgebautes Eiweißprodukt darstellt. Erepton wird als vollständig abgebautes Fleisch bezeichnet. Die Anwendung von Erepton schien mir noch aus dem Grunde empfehlenswert, weil sein Zusammenwirken mit Traubenzucker auf überlebende Organe von großem Interesse ist und zu solchen Zwecken auch von Richardson und Abelin[1]) angewendet wurde. Die direkte Bestimmung von Traubenzucker in Gegenwart von Erepton ist ganz undurchführbar.

Man muß dafür in erster Linie die Aminosäuren, die die Hauptmenge des Ereptons ausmachen, verantwortlich machen, indes gilt dies nicht für Monoaminosäuren. M. Rosenblatt[2]) hat im Laboratorium von Gabriel Bertrand den Einfluß der Aminosäuren auf die Zuckerbestimmung nach der Titrationsmethode mit Kaliumpermanganat näher untersucht und fand, daß die Anwesenheit von Glykokoll, Alanin, Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Asparagin und Betain die Genauigkeit der Zuckeranalyse entweder gar nicht oder nur unwesentlich beeinflußt. Einzelne seiner Angaben habe ich überprüft und kann sie vollkommen bestätigen. In einer 2%igen Glykokollösung wurde 0,1% Traubenzucker zugesetzt und der Zucker nach Bertrand bestimmt. Die Analyse ergab einen vollständig richtigen Wert.

Wie ich feststellen konnte, beruht die störende Wirkung des Ereptons auf der Abspaltung von Ammoniak bei Kochen mit der stark alkalischen Tartratlösung. Das freigewordene

---

[1]) Abelin, diese Zeitschr. 74.

[2]) M. Rosenblatt, diese Zeitschr. 43.

Ammoniak geht mit dem Kupferoxydulniederschlag eine komplexe wasserlösliche Verbindung ein, so daß bei der darauf folgenden Titration mit Kaliumpermanganat ein erhebliches Defizit an reduziertem Kupferoxydul auftritt.

Werden z. B. 20 ccm einer 2%igen Ereptonlösung, die 0,1% Traubenzucker enthält, nach der Vorschrift von Bertrand mit 20 ccm der Kupfersulfat- und 20 ccm der alkalischen Tartratlösung zum Sieden erhitzt, so fallen nur ganz geringe Spuren von Kupferoxydul aus, der größte Teil hingegen geht in Lösung mit schön blauer Farbe. Von der Ammoniakabspaltung während des Kochens kann man sich leicht überzeugen, wenn man über die kochende Flüssigkeit einen feuchten Streifen von rotem Lackmuspapier oder einen mit konzentrierter Salzsäure benetzten Glasstab hält.

Über die Menge des frei werdenden Ammoniaks gibt folgender Versuch Auskunft.

1,2630 g Erepton wurden in 200 ccm Wasser gelöst und mit 40 ccm 60%iger Kalilauge versetzt und im Kjeldahlkolben destilliert. Das Destillat wurde in $^n/_{10}$-Schwefelsäure aufgefangen. Verbraucht wurden 8,5 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, entsprechend 14,44 mg Ammoniak.

Ich konnte feststellen, daß die Abspaltung von Ammoniak resp. von ammoniakliefernden Atomgruppen auch bei längerem Aufbewahren des Ereptons bei gewöhnlicher Temperatur stattfindet. Diesbezüglich möchte ich nur folgende Beobachtung anführen. Ein Teil meiner Ereptonversuche wurde mit einem Präparat ausgeführt, das seit 1 bis 2 Jahren unter Originalverschluß in der Originalflasche aufbewahrt wurde. Das gleiche Produkt benutzte seinerzeit auch Dr. Abelin bei seinen Durchströmungsversuchen an der überlebenden Kaninchenleber. Dieses Erepton gab damals beim Kochen mit der alkalischen Tartratlösung eine Abspaltung von Ammoniak. Bei den Zuckeranalysen mußte das Erepton beseitigt werden[1]).

Im Sommer 1917, nach ca. 15 Monaten, kam das gleiche Ereptonpräparat bei meinen Zuckeranalysen zur Anwendung, und überraschenderweise konnte festgestellt werden, daß diesmal das Kupferoxydul nicht mehr gelöst, sondern regelrecht gefällt wurde. War die Ereptonkonzentration gering, ca. $^1/_4$%, so zeigte der Kupferoxydulniederschlag die bekannte ziegelrote Farbe, bei höherer Konzentration war der Niederschlag mehr gelb. In beiden Fällen waren die Analysen nicht richtig, da Spuren von Kupferoxydul doch in Lösung gegangen waren. Ammoniakabspaltung konnte beim Kochen der stark alkalischen Lösung nicht nachgewiesen werden. Bei einem diesbezüglichen Versuch einer Destillation von 0,983 g dieses Ereptons wurden nur Spuren der $^n/_{10}$-Schwefelsäure verbraucht. Es unterliegt also keinem Zweifel, daß das Erepton während der langen Aufbewahrung eine Veränderung erfahren hat, und zwar in dem Sinne, daß es ammoniakliefernde Atomgruppen verloren hat. Zur

[1]) Vgl. Versuche auf Seite 260 in Bd. 74 der Biochem. Zeitschr.

Kontrolle habe ich die übrigen Versuche an einer frischen Sendung Erepton ausgeführt. Dieses Präparat vermochte Kupferoxydul in Lösung zu halten, und beim Kochen mit alkalischer Tartratlösung konnte Ammoniak nachgewiesen werden.

Worauf diese Abspaltung von Ammoniak zurückzuführen ist, läßt sich nicht mit Sicherheit angeben, da über die Zusammensetzung des Ereptons noch Meinungsverschiedenheiten bestehen. Abderhalden[1]) betrachtet das Erepton als praktisch vollständig bis zu Aminosäuren abgebautes Fleisch. Der Abbau erfolgt durch sukzessive Einwirkung von Magensaft, Pankreassaft und Darmsaft auf ganz mageres Rindfleisch[2]). Das Erepton gibt keine Biuretreaktion, dennoch wäre dieses Verhalten allein kein genügender Beweis für das Fehlen von Polypeptidbindungen, da nach neueren Erfahrungen die Biuretreaktion auch von manchen höher zusammengesetzten Eiweißprodukten nicht gegeben wird[3]). Die vollständige Spaltung des von Abderhalden benützten, tief abgebauten Fleisches geht aber aus andern Versuchen hervor. Mit Hilfe der von Sörensen eingeführten Formoltitration konnte Abderhalden nachweisen, daß die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffes auch nach der Säurehydrolyse des Ereptons nicht zunimmt, ein Hinweis darauf, daß im Erepton Polypeptidbindungen nicht vorliegen. Das Erepton wurde von Abderhalden auch nach der Methode von V. Henriques und J. K. Gjaldbäck[4]) untersucht, und zwar wurde nebeneinander der Gesamtstickstoff, der formoltitrierbare Stickstoff und der Ammoniak vor und nach der Säurehydrolyse des Ereptons untersucht. Nennenswerte Unterschiede haben sich dabei nicht feststellen lassen.

Diesen Versuchen von Abderhalden mit vollständig abgebauten Fleischpräparaten stehen Versuche von A. C. Andersen[5]) entgegen. Im Gegensatz zu Abderhalden findet Andersen bei den von ihm untersuchten Ereptonpräparaten (Op. 26, 32, 38) eine bedeutende Vermehrung sowohl des formoltitrierbaren als auch des Ammoniakstickstoffes nach der Säurehydrolyse der Präparate. In Prozenten des Gesamtstickstoffes des Ereptons ausgedrückt, beträgt die Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffes 7,6 bis 15,4%, des Ammoniakstickstoffes 4,03 bis 6,28%. Auf Grund dieser und anderer Versuche zweifelt Andersen an der Möglichkeit des vollständigen Fleischabbaues mit Hilfe von Enzymen außerhalb des tierischen Körpers, wenigstens ist es ihm nicht gelungen, Fleisch von verschiedenen Tieren (Kalb, Ziege, Hund) bei der Verdauung mit Enzymen vollständig abzubauen. Die Menge des formoltitrierbaren Stickstoffes schwankte bei diesen Versuchen zwischen 67 und 70% des Gesamtstickstoffes und nahm auch nach der Hydrolyse mit Salzsäure oder nach dem Autoklavieren erheblich zu (um 13 bis 14%). Auch

---

[1]) Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 405.

[2]) Abderhalden u. Suka, Zeitschr. f. physiol. Chem. **68**, 416.

[3]) Abderhalden u. Prym, Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**, 320.

[4]) V. Henriques u. J. K. Gjaldbäck, Zeitschr. f. physiol. Chem. **67**, 8.

[5]) A. C. Andersen, diese Zeitschr. **70**, 348.

Henriques und Gjaldbäck gelangten bei der Verdauung von Fleisch mit Trypsin und Erepsin zu Präparaten, die noch 6 bis 12% peptidgebundenen Stickstoff enthielten.

Es ist somit die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß je nach der Behandlungsweise das Erepton geringere oder größere Mengen von Polypeptiden enthalten kann. Sollte es sich bei dem von mir verwendeten Ereptonpräparat um ein noch Polypeptidbindungen enthaltendes Produkt gehandelt haben, so wäre die Entstehung des Ammoniaks auf eine Hydrolyse durch das kochende konzentrierte Alkali zurückzuführen. Allerdings sollte dann diese sekundäre Bildung von Ammoniak nicht sehr bedeutend sein. In erster Linie kommt das Freiwerden des im Erepton primär enthaltenden Ammoniaks in Betracht. Nach den von Abderhalden und Rona[1]) ausgeführten und von Andersen[2]) umgerechneten Versuchen, schwankt der Gehalt des Ammoniaks im Erepton zwischen 10 und 15% des Gesamtstickstoffes. Dieses Ammoniak wäre dann in meinen Versuchen für die Auflösung des Kupferoxyduls beim Kochen mit der alkalischen Seignettesalzlösung verantwortlich zu machen. Das Verschwinden der ammoniakliefernden Komponente beim längern Aufbewahren des Ereptons ist einer bakteriellen Einwirkung zuzuschreiben. Diese Bakterientätigkeit kann sowohl zur Aufspaltung vorhandener Polypeptidbindungen als auch zur Assimilation des im Erepton vorhandenen Ammoniaks führen, da bekanntlich die Bakterien proteolytische Prozesse durchführen und auch Ammoniak als Baumaterial für ihre Eiweißsynthese ausnützen können.

Bei der Entfernung des Ereptons hat sich die Fällung mit Sublimat bei neutraler Reaktion ebenfalls bewährt. Die Arbeitsweise war dieselbe wie bei der Ausfällung des Peptons. Sehr gute Resultate erhielt ich auch mit dem Fällungsverfahren nach Patein-Dufau. Zeitraubend und ziemlich umständlich ist bei dieser Methode die genaue Neutralisation mit Kalilauge, jeder Überschuß von Kalilauge muß dabei sorgfältig vermieden werden. Andererseits muß aber auch die Salpetersäure vollständig gebunden werden, da sich bei den weiteren Operationen die Anwesenheit von Salpetersäure recht störend erweist, indem der Schwefelwasserstoff oxydiert wird und kolloidalen, äußerst schwer filtrierbaren Schwefel liefert. Die Methode von Patein-Dufau scheint auch bei Ereptonlösungen vollständigere Fällungen zu geben als das Sublimat, da das Filtrat vom Quecksilbernitratniederschlag keine Ninhydrinreaktion mehr zeigte, während

---

[1]) Abderhalden u. Rona, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 360.

[2]) Andersen, l. c.

nach der Ausfällung der N-haltigen Substanzen mit Sublimat die Ninhydrinreaktion im Filtrat noch erhalten blieb.

Die Fällungen mit Sublimat oder Quecksilbernitrat sind auch da noch anwendbar, wenn ein Gemisch von Albumose, Pepton und Erepton vorliegt. Dies war auch bei den unter Nr. 23 und 24 beschriebenen Versuchen der Fall. Anschließend die Protokolle der Versuche 14, 18a und 18b und Tabelle IV.

Versuch 14. Methode: Ohne Enteiweißung, Kontrollversuch. Ca. 1,9 g Glucose werden in 250 ccm Wasser gelöst und zweimal je 50 ccm abpipettiert und daraus zwei Lösungen hergestellt. Lösung A: Die 50 ccm werden auf 150 ccm aufgefüllt und in drei Proben zu je 25 ccm der Zucker nach Bertrand bestimmt. Die Lösung enthält auf Grund dieser Titrationen 1,8912 g Glucose. Die Lösung B: Zu den 50 ccm Zuckerlösung kommt ca. 1 g Erepton, und das Ganze wird ebenfalls auf 150 ccm aufgefüllt und an drei Proben zu je 25 ccm der Zucker bestimmt. Der Titer ist 0,009984. Probe I 10,85 ccm, Probe II 10,80 ccm, Probe III 11,00 ccm, im Mittel 10,883 ccm $KMnO_4$-Lösung verbraucht.

Lösung A	enthält	1,8912 g Glucose,	die Lösung	war	1,2608 %
Lösung B	„	1,7250 „	„	„	„	1,1500 %
		— 0,1662 g Glucose,			Differenz	0,1108 %

Der Analysenfehler von 0,1108 % wird dadurch erklärt, daß bei Anwesenheit des Ereptons das Kupferoxydul in gelber Modifikation und zwar kolloidal ausfällt, so daß große Verluste beim Filtrieren entstehen.

Versuch 18. Methode: Enteiweißung mit Sublimat. Ca. 1,2 g Glucose wurden in 150 ccm Wasser gelöst, davon zweimal je 50 ccm abpipettiert und zwei Lösungen daraus hergestellt. Lösung A: Die 50 ccm werden auf 250 ccm aufgefüllt, an drei Proben zu je 25 ccm wird der Zucker bestimmt. Lösung B: Zu den andern 50 ccm werden ca. 2 g Erepton und 80 ccm Sublimat zugesetzt und auf 250 ccm aufgefüllt. In einem Teile des eiweißfreien Filtrates wurde der Zucker unmittelbar, in einem andern Teil nach vorheriger Behandlung mit Phosphorwolframsäure bestimmt.

a) Direkte Bestimmung des Traubenzuckers in drei Proben zu je 25 ccm Titer 0,009984. Probe I 8,40 ccm, Probe II 8,25 ccm, Probe III 8,25 ccm, im Mittel 8,283 ccm $KMnO_4$ verbraucht.

Zugesetzt	1,2918 g	Glucose	entspr.	einer	0,8612 %igen	Lösung
Berechnet	1,2849 „	„	„	„	0,8565 %	„	„
Differenz	0,0069 g	„	„	„	0,0047 %	„	„

Analysenfehler 0,0047 %.

b) Zuckerbestimmung nach Fällung des Filtrates mit Phosphorwolframsäure. Zwei Proben zu je 25 ccm der enteiweißten Lösung werden mit 1 %iger Phosphorwolframsäure versetzt, kurze Zeit stehen gelassen und dann abfiltriert. Titer 0,009984. Probe I 7,75 ccm, Probe II 7,80 ccm, im Mittel 7,77 ccm $KMnO_4$ verbraucht.

Tabelle IV.

Versuchs-Nr.	Methode	Prozentzahl der Ausgangslösung an Eiweißspaltungsprodukten	Kaliumpermanganatlösung: 25 ccm des eiweißfreien Filtrates verbrauchten b. d. Titration im Mittel … ccm $KMnO_4$	Kaliumpermanganatlösung: 1 ccm der $KMnO_4$-Lösung entspr. … g Cu	Zucker zugesetzt: in g	Zucker zugesetzt: in % der Ausgangslösung	Zucker gefunden: in g	Zucker gefunden: in % der Ausgangslösung	Differenz(fehler): in g	Differenz(fehler): in % der Ausgangslösung	Ninhydrinreaktion nach dem Enteiweißen
14	Ohne Enteiweißen	2 % Erepton	10,883	0,00998	1,8912	1,2608	1,7250	1,1500	0,1662	0,1108	+
15	Patein-Dufau	dto.	7,213	0,00998	1,1127	0,7418	1,1102	0,740	0,0024	0,0017	–
16	dto.	dto.	6,583	0,00998	1,0040	0,6693	1,005	0,70	0,0001	0,0007	–
17	dto.	dto.	7,65	0,00998	1,1821	0,7881	1,1820	0,788	0,0001	0,0001	–
18a	Sublimat	dto.	8,283	0,00998	1,2918	0,8612	1,2849	0,856	0,0069	0,0047	+
18b	Sublimat + Phosphorwolframsäure	dto.	7,77	0,00998	1,2918	0,8612	1,2012	0,800	0,0906	0,604	+
19	Sublimat	dto.	6,75	0,00998	1,0482	0,7988	1,0344	0,789	0,0138	0,0092	+
20	dto.	dto.	6,70	0,00998	1,2312	0,8208	1,2060	0,80	0,0252	0,0208	+
21	Patein-Dufau	dto.	7,95	0,00998	1,251	0,8340	1,2312	0,820	0,0198	0,0132	–
22	Sublimat	dto.	7,61	0,00998	1,2009	0,80	1,1704	0,78	0,0305	0,02	+
23	Patein-Dufau	2 % Erepton + W.-Pepton	8,60	0,00998	1,3500	0,90	1,3218	0,88	0,028	0,02	
24	Sublimat	dto.	8,20	0,00998	1,3159	0,877	1,2558	0,837	0,0601	0,04	

Zugesetzt	1,2918 g	Glucose	entspr.	einer	0,8612 $^0/_0$igen	Lösung
Berechnet	1,2012 „	„	„	„	0,8008 $^0/_0$ „	„
Differenz	0,0906 g	„	„	„	0,0604 $^0/_0$ „	„

Der Analysenfehler ist 0,0604 $^0/_0$.

Die Ergebnisse der anderen Versuche sind aus Tabelle IV ersichtlich.

Zusammenfassung.

1. Die höheren Eiweißabbauprodukte (Albumosen, Peptone), die die Genauigkeit der quantitativen Zuckerbestimmung beeinträchtigen, können bei der Zuckerbestimmung nach Bertrand durch die Fällung mit Sublimat bei neutraler Reaktion beseitigt werden. Die Anwesenheit von Säuren macht die Sublimatfällung unvollständig und für die Zuckerbestimmung ungeeignet. Bei der Fällung ist jeder Überschuß an Sublimat zu vermeiden. Gute Resultate wurden in meinen Versuchen bei Anwendung von 2 g Sublimat auf je 1 g Pepton erzielt. Die Fällung mit Quecksilbernitrat nach Patein-Dufau gibt bei genauer Durchführung stets gute Resultate.

2. Die Monoaminosäuren beeinflussen die Genauigkeit der Bertrandschen Methode nicht. Dagegen erweist sich das vollständig abgebaute Eiweißpräparat Erepton als störend. Diese Wirkung beruht auf dem Vorhandensein von gewissen Atomgruppierungen im Erepton, die beim Kochen mit Alkali Ammoniak freimachen. Das Kupferoxydul wird dann durch das Ammoniak aufgelöst. Die Ammoniakabspaltung aus dem Erepton findet auch bei gewöhnlicher Temperatur statt und macht sich bei längerem Aufbewahren des Präparates bemerkbar. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um bakterielle Zersetzung.

3. Auch aus zuckerhaltigen Ereptonlösungen wird das Erepton durch Sublimat bei neutraler Reaktion so weit gefällt, daß die Zuckerbestimmung im Filtrate genaue Werte ergibt. Die Ausfällung mit Quecksilbernitrat liefert ebenfalls sehr genaue Resultate.

Beitrag zur Methodik der Harnstoffstickstoffbestimmung im Blute (und Urin).

Von

B. Albert.

(Aus dem Laboratorium des Sonderlazaretts für Nierenkranke, Mannheim.)

(Eingegangen am 30. September 1918.)

Die Wichtigkeit der Harnstoff- bzw. Harnstoff-N-Bestimmung (kurz H.-N oder $\overset{+}{\text{U}}$r-N) steht der Rest-N-Analyse um nichts nach.

Wie ich schon bei der Schilderung der Rest-N-Methodik[1]) betont habe, ist zur Eindeutigkeit des erhöhten Rest-N noch die Bestimmung einer der beiden Hauptfraktionen desselben, des summarischen Harnstoff-N (Sa.H.-N) oder des summarischen Aminosäuren-N (Sa.A.S.-N) erforderlich, da aus der Rest-N-Bestimmung allein nicht hervorgeht, durch welchen der beiden Komponenten die Erhöhung hauptsächlich verursacht wurde. Zu diesem Zwecke führt man gleichsam zur Ergänzung des Rest-N, sehr oft auch, besonders in Frankreich (Yvon, Ambard, Hallion, Widal u. a.), als Ersatz desselben eine Harnstoff-N-Bestimmung aus und spricht dann bei einer gefundenen Erhöhung des Harnstoffs von einer Azotämie.

Wie für die Rest-N-Bestimmung, so sind auch hier zahlreiche (Makro-)Methoden ausgearbeitet worden, die gestatten, unter ziemlich viel Aufwand an Zeit, Arbeit und Material mehr oder weniger genaue Harnstoff-N-Bestimmungen auszuführen. Bang hat analog der Rest-N-Bestimmung auch eine Mikromethode für die Harnstoff-N-Bestimmung ausgearbeitet, die aber in der Durchführung eher noch schwieriger als seine Rest-N-Bestimmung ist.

Dagegen auf eine andere Mikrobestimmung des Harn-

---

[1]) Diese Zeitschr. 92, 397, 1918.

stoff-N von Lesser-Siebeck[1]) oder besser des summarischen Harnstoff-N, der sich aus ca. 98 bis 99 % Harnstoff-N und 1 bis 0,5 % Ammoniak-N und Spuren Stickstoff anderer Körper (Kreatinin) zusammensetzt, möchte ich hinweisen, eine Methode, die es jedem praktischen Arzte mit schon fix und fertig geeichten Apparaten und unter Benützung der Faktorentabelle ermöglicht, bei Niereninsuffizienz gleichsam als Ersatz des Rest-N den summarischen Harnstoff-N innerhalb ca. 20 Minuten in 0,4 ccm Serum zu bestimmen. Ferner lassen sich zu gleicher Zeit so viele Analysen auf einmal ausführen, als Manometerapparate vorhanden sind. Diese Mikromethode beruht auf dem auch sonst zu Makrobestimmungen benutzten Prinzip, durch Bromlaugezusatz aus dem Harnstoff den Stickstoff in Gasform abzuscheiden, der deshalb sehr oft auch als Bromlaugestickstoff bezeichnet wird. Aus dem genau gemessenen N-Volumen läßt sich dann die N-Menge in Milligramm umrechnen. Leider ergibt die Methode konstant um etwa 5 % zu niedrige Werte, was aber die Brauchbarkeit der Endresultate nur insoweit beeinflußt, als man dieselben um 5 % zu erhöhen hat.

Zunächst möchte ich etwas näher auf die vorbereitende **Enteiweißung** des Serums eingehen.

Siebeck selbst gibt an, „daß er ursprünglich mit kolloidalem Eisen enteiweißt habe, daß er aber dabei zu wenig des im Serum enthaltenen Harnstoff-N zur Bestimmung gebracht habe, weshalb er dann die französische Methode der Enteiweißung mit Trichloressigsäure vorgezogen habe". Daß mit der Eisenmethode zu wenig Material zur Analyse gelangt, trifft jedoch wohl nur dann zu, wenn bei der Enteiweißung eine unnötige Verdünnung des Serums stattfindet. Benützt man die schon bei der Rest-N-Methodik näher beschriebene Serumenteiweißung mit Eisen bei einer Gesamtverdünnung 1 zu 10 und verwendet 4 ccm[2]) des Filtrats (0,4 ccm ursprüngliches Serum) zur Analyse, so gelangt eine mehr als doppelt so große Serummenge zur Bestimmung, als wenn man nach der Vorschrift von Siebeck mit Trichloressigsäure arbeitet, wo nur etwa 0,15 ccm Blut zur tatsächlichen Bestimmung gelangen. Enteiweißt man

---

[1]) Siebeck, Arch. f. klin. Med. **116**. — **Anmerkung:** Die gleiche Methode wurde im Laboratorium des städt. Krankenhauses Mannheim unabhängig von Siebeck auf Veranlassung Volhards auch von Lesser zur H.-N-Bestimmung benutzt.

[2]) Die von mir benutzten Kölbchen hatten ein unteres Fassungsvermögen von nur 4 ccm, nicht 5 ccm, wie die von Siebeck benutzten

deshalb mit kolloidalem Eisen schon zur Rest-N-Bestimmung mindestens 2 ccm Serum, so genügt das erhaltene Filtrat für je eine Rest-N- (7 ccm) und eine Harnstoff-N-Bestimmung (4 ccm). Da keine Neutralisation der Trichloressigsäure und nur eine einmalige Abmessung des Filtrats erforderlich ist, ergibt sich eine bedeutende Vereinfachung.

Im folgenden werde ich nun, ohne mich auf eine genaue Beschreibung der **Apparatur** und deren Eichung einzulassen, indem ich auf die Siebecksche Arbeit hinweise, in kurzen Worten den Hergang einer solchen Harnstoff-N-Bestimmung in der von mir als praktisch gefundenen Modifikation schildern.

Die Apparatur[1]) besteht für je eine Bestimmung aus einem Barcroftschen Manometer, dem Anhängekölbchen mit dem Bromlaugesack und einem größeren Wasserbade mit Rührwerk, in das die einzelnen Manometer mit den angeschlossenen Kölbchen eingehängt werden. Um etwaige Druckänderungen während der Bestimmung infolge unvermeidlicher Temperaturschwankungen des Wasserbades zu korrigieren, wird für sämtliche auf einmal auszuführende Analysen eine Blindanalyse mit destilliertem Wasser ausgeführt und die daselbst eingetretene Druckschwankung bei der Ablesung berücksichtigt. Hat man nun eine Anzahl Harnstoff-N-Bestimmungen auszuführen, so hängt man zunächst die enteiweißten Serumfiltrate (4,5 bis 5 ccm) in numerierten Reagensgläsern samt einem Reagensglase mit destilliertem Wasser unter öfterem Schütteln in das Wasserbad, in dem die Bestimmungen ausgeführt werden sollen, so daß die einzelnen Lösungen die Temperatur des Wasserbades annehmen und bei dieser Temperatur mit Luft gesättigt sind. Sodann gibt man mit einer besonders gekrümmten Pipette in den Sack der numerierten Anhängekölbchen, deren Stöpsel am Manometer mit einem Gummischlauch luftdicht angeschlossen sind, je 0,5 ccm Bromlauge, dann mit je einer frischen sauberen Pipette je 4 ccm der einzelnen Filtrate resp. Wasser in die Kölbchen. Dieselben werden nun fest an die eingefetteten Stöpsel angedreht und vorsichtig in das Wasserbad gehängt, so daß eine vorzeitige Mischung der Bromlauge mit der Lösung vermieden wird. Man stellt dann das Manometer im geschlossenen Schenkel genau auf eine bestimmte Marke, am besten 50, ein und wartet bei offenem Manometerhahn in ca. 5 Minuten Temperaturausgleich ab. Hierauf schließt man den Manometerhahn und notiert den Stand im freien Schenkel, der in der Regel dem des geschlossenen gleich ist. Hat man sich nun noch einmal vom Temperaturausgleich überzeugt (es darf keine Druckänderung mehr eintreten), so schüttelt man den Inhalt sämtlicher Kölbchen wiederholt gut durch, so daß die Bromlauge und die Lösungen sich gut mischen, und stellt im geschlossenen Schenkel das Manometer immer wieder auf die Marke 50 ein. Dieses Verfahren setzt man unter Schütteln so lange fort, bis keine Druckänderung, verglichen mit der Blindanalyse, mehr eintritt, worauf dann die Druckzunahme (p_z) zwischen der Blindanalyse

[1]) Die komplette Apparatur ist bei Desage, Heidelberg erhältlich.

und den einzelnen Harnstoff-N-Bestimmungen des Serums in Millimeter abzulesen ist.

Auf die nun folgende ziemlich komplizierte **Umrechnung** des entwickelten N-Volumens in Milligramm möchte ich wieder ausführlicher eingehen und zeigen, wie sie sich bei Einhaltung obiger Analysenmodifikation so weit vereinfacht, daß die ganze Berechnung durch Multiplikation von 3 Zahlen sich bewerkstelligen läßt.

Die Berechnung selbst beruht auf dem Boyle-Mariotteschen Gasgesetz. Es sei:

1 Atm. = 10000 mm Wasserdruck;

p_z = die in Millimeter gemessene, am Manometer abzulesende Druckzunahme;

V_x = das gesuchte Volumen des entwickelten N-Gases;

V_0 = das auf eine Temperatur von 0° und einen Luftdruck von 760 mm reduzierte Volumen V_x;

V_a = das durch Eichung jeweils gefundene Volumen jedes einzelnen Manometers;

t = die bei der Ablesung beobachtete Wasserbadtemperatur;

p = der am Barometer (auch Aneroidbarometer) abgelesene Luftdruck;

S_x = das durch die Wasserbadtemperatur t und den herrschenden Luftdruck p bedingte spezifische Gewicht des N-Gases, das einer N-Reduktionstabelle zu entnehmen ist, deshalb auch Tabellenfaktor genannt;

S_0 = das auf 0° und 760 mm reduzierte spezifische Gewicht des N-Gases = 1,2505;

mg N = die Anzahl Milligramm summarischer Harnstoff-N oder besser Bromlauge-N in 100 ccm Ausgangsmaterial;

f_a = der durch Berechnung gefundene Faktor jedes einzelnen Apparates;

28 = das Molekulargewicht des N-Gases;

22,4 = das Molvolumen der Gase;

0,4 = die Anzahl Kubikzentimeter des normalerweise zur Analyse gelangten Materials.

Nach dem Boyle-Mariotteschen Gesetz verhält sich die gemessene Druckzunahme zum Atmosphärendruck wie das gesuchte N-Volumen zum Apparatevolumen, also:

$$\frac{p_z}{10000} = \frac{V_x}{V_a}; \quad V_x = \frac{p_z \cdot V_a}{10000}.$$

Dieses Volumen V_x verhält sich zu dem auf 0° und 760 mm reduzierten Volumen V^0 umgekehrt, wie die dazu gehörenden spezifischen Gewichte S_x und S_0, also:

$$\frac{V_x}{V_0} = \frac{S_0}{S_x}; \quad V_0 = \frac{S_x \cdot V_x}{S_0} = \frac{S_x \cdot p_z \cdot V_a}{10000 \cdot 1{,}2505}.$$

Dieses in Kubikmillimetern gemessene N-Volumen ist in Milligramm umzurechnen. Es verhält sich das auf 0° und 760 mm reduzierte Volumen V_0 zum Molvolumen, wie die gesuchte Anzahl Milligramm zum Molekulargewicht des N-Gases, also:

$$V_0 : 22,4 = \mathrm{mg} : 28; \quad \mathrm{mg} = \frac{V_0 \cdot 28}{22,8} = \frac{p_z \cdot V_a \cdot S_x \cdot 28}{10000 \cdot 1,2505 \cdot 22,4}.$$

Dieses ist der Stickstoff, der in der zur Analyse gelangten Materialmenge von 0,4 ccm enthalten ist. In 100 ccm sind also dann enthalten:

$$\frac{p_z \cdot V_a \cdot S_x \cdot 28 \cdot 100}{10000 \cdot 1,2505 \cdot 22,4 \cdot 0,4} = \mathrm{mg\ N}.$$

Zur Beseitigung des ziemlich konstanten 5%igen Analysenfehlers ist das ganze noch mit 1,05 zu multiplizieren, also:

$$\frac{p_z \cdot V_a \cdot S_x \cdot 28 \cdot 100 \cdot 1,05}{10000 \cdot 1,2505 \cdot 22,4 \cdot 0,4} = \mathrm{mg\ N}.$$

Wie man sich leicht überzeugen kann, kommen in jeder Analysenberechnung sehr viele dieser Zahlen immer wieder vor. Man rechnet sich deshalb das Resultat derselben ein für allemal aus und erhält dann die vereinfachte Formel:

$$p_z \cdot V_a \cdot S_x \cdot 0,02625 = \mathrm{mg\ H.\text{-}N.}$$

Für ein und denselben Apparat, z. B. Nr. 2, lassen sich auch noch V_{a_2} und die Zahl 0,02625 als den sogenannten Faktor des Apparates Nr. 2, f_{a_2}, zusammenfassen. V_{a_2} sei z. B. 10,4 ccm, dann ist $f_{a_2} = 10,4 \cdot 0,02625 = 0,272$. Man erhält also schließlich bei Einhaltung obiger Analysenmodifikation folgende allgemeine Berechnungsformel:

$$p_z \cdot S_x \cdot f_a = \mathrm{mg\ Sa.H.\text{-}N} \quad \text{oder} \quad \mathrm{NaOBr\text{-}N.}$$

In Worten ausgedrückt erhält man folgende Regel: Die Anzahl der am Manometer abgelesenen Millimeter p_z ist mit dem durch die Wasserbadtemperatur p und dem Luftdruck t bedingten Tabellenfaktor S_x und mit dem für jeden einzelnen Apparat berechneten Faktor f_a zu multiplizieren, um die Anzahl Milligramm von summarischem Harnstoff-N oder Bromlauge-N zu erhalten, die in 100 ccm Serum enthalten sind.

Ist der Gehalt des Serums an Harnstoff-N 80 mg und mehr, so ist die entwickelte N-Gasmenge so groß, daß die Apparate dieselbe nicht mehr zu fassen vermögen. Man benutzt dann vom Filtrate nur 2 oder gar bloß 1 ccm und gibt noch 2 bzw. 3 ccm destilliertes Wasser dazu, in welchem Falle die Endresultate dann noch mit 2 bzw. 4 zu vervielfachen sind.

In ähnlicher Weise wird auch die Bestimmung des **Harnstoff-N im Urin** ausgeführt. Da jedoch der Harnstoffgehalt des Urins, ca. 80% des Gesamt-N im Urin, verglichen mit dem des Serums, sehr hoch ist,

so ist eine 100 fache Verdünnung des Urins erforderlich. Man verdünnt zu diesem Zwecke 1 ccm des eventuell klar filtrierten Urins unter Zugabe einiger Tropfen Lauge mit destilliertem Wasser auf 100 ccm und benützt davon 4 ccm zur Bestimmung. Ist der Harnstoffgehalt des Urins größer als etwa 0,8 %, so genügen schon 2 ccm des 100 fach verdünnten Urins mit 2 ccm Wasser zur Bestimmung. Bei der Berechnung ist dann noch zu beachten, daß die Faktoren der einzelnen Apparate (f_a) infolge der 100 fachen Verdünnung gegenüber der 10 fachen des Serums 10 mal größer sind, und daß die N-Bestimmungen im Urin gebräuchlicherweise in Grammprozent berechnet werden.

Beide Bestimmungen, im Serum und im Urin, finden praktische Anwendung bei der Ambardschen Konstantenberechnung (siehe folgende Mitteilung).

Um nun auch ein Urteil über die Brauchbarkeit der Analysenwerte obiger Methode zu erhalten, d. h. um zu sehen, in welchem Grade der Bromlauge-N von dem reinen H.-N und dem Gesamt-N abweicht, habe ich zum Vergleiche den Stickstoff eiweißhaltiger Urine nach verschiedenen Methoden bestimmt, und zwar wurden zunächst der Gesamt-N des Urins (also einschließlich des Eiweiß-N) und dann nach der Enteiweißung mittels kolloidaler Eisenlösung gleichsam der Rest-N des Urins nach der gewöhnlichen Kjeldahl-Methode bestimmt. Sodann wurden nebeneinander N-Bestimmungen in dem 100 fach verdünnten eiweißhaltigen und vom Eiweiß befreiten Urin nach der oben geschilderten Modifikation der Lesser-Siebeckschen Methode ausgeführt. Schließlich wurde der Stickstoff des Harnstoffs allein auch noch mittels der neuerdings (von Strauß) immer mehr empfohlenen Ureasemethode nach Hahn[1]) bestimmt, wie folgende Tabelle zeigt.

Tabelle.

Lfde. Nr.	Urin mit ‰ Eiweiß	ergibt % N nach der				
		Kjeldahl-Methode		Bromlauge-Methode		Urease-Methode
		nicht enteiweißt	enteiweißt	nicht enteiweißt	enteiweißt	nicht enteiweißt
		Ges.-N	Rest-N	Sa.H.-N	Sa.H.-N	H.-N
1	9,7	0,593	0,382	0,343	0,333	0,293
2	10,0	0,606	0,379	0,340	0,322	0,291
3	6,9	0,685	0,462	0,374	0,373	0,354

[1]) Hahn, Deutsche med. Wochenschr. 1915, Nr. 5.

Wie man aus der Tabelle ersieht, ergibt die Ureasemethode die niedersten Werte für Stickstoff, den Stickstoff des Harnstoffs allein, während die Bromlaugemethode etwas höhere, jedoch nur um etwa 0,04 bis 0,05 % abweichende Werte zeigt, und, was besonders wichtig ist, daß selbst ein Gehalt von 10 ‰ Eiweiß das Resultat nur minimal beeinflußt, während die Kjeldahl-Methode besonders für den Gesamt-N ganz bedeutend abweichende, fast doppelt so hohe Werte aufweist. Der Bromlauge-N kann also, ohne daß man einen wesentlichen Fehler begeht, sehr gut als H.-N betrachtet werden.

Die Ambardsche Konstante der Harnstoffausscheidung.

Von

B. Albert.

(Aus dem Laboratorium des Sonderlazaretts für Nierenkranke, Mannheim

(Eingegangen am 30. September 1918.)

Unter Ambardscher Konstante oder Harnstoffausscheidungskonstante (Constante uréosécrétoire) nach Ambard versteht man das (auf Grund dreier, ebenfalls von ihm aufgestellter Gesetze) zahlenmäßig ausgedrückte Verhältnis des Harnstoffgehalts im Blutserum zur Harnstoffausscheidung im Urin, das bei Gesunden etwa 0,07 bis 0,10 betragen soll. Näheres darüber siehe im Volhardschen Handbuch für Nierenkrankheiten „Die doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen, 1918".

Ambard hat zur Bestimmung dieser Konstante zunächst aus einer zeitlich genau abgegrenzten Urinportion die 24stündige Harnstoffmenge berechnet und dabei eine Standardkonzentration von 25‰ Harnstoff in 24 Stunden (Harnstoffdébit) angenommen und auf Grund seiner 3 Gesetze für die Berechnung folgende Formel aufgestellt:

$$K = \frac{Ur}{\sqrt{D_{25}}} = \frac{Ur}{\sqrt{\frac{D \cdot \sqrt{C}}{5}}} = 0{,}07\,,$$

wobei Ur der Harnstoffgehalt eines Liters Serums, C der Harnstoffgehalt eines Liter Urins, und D die auf die 24stündige Urinausscheidung berechnete Harnstoffmenge (débit), alles in g gemessen, bedeutet.

Um die Richtigkeit dieser merkwürdigen gesetzmäßigen Beziehung zwischen dem Harnstoffspiegel im Blute und der Harnstoffausscheidung im Urin zu prüfen, wurden im Sonder-

lazarett für Nierenkranke, Res.-Laz. IV Mannheim, bis jetzt etwa 30 Bestimmungen der Konstante bei einigen Gesunden und den verschiedenen Nierenerkrankungen ausgeführt.

Der Hergang einer solchen Bestimmung ist folgender:

Der noch nüchterne Patient hat Urin zu lassen, wobei demselben einzuschärfen ist, daß er die Blase ganz entleert. Bestehen aus irgendeinem Grunde Bedenken, ob die Blasenentleerung vollständig und ohne Urinverluste erfolgt (besonders bei Frauen), so ist eine Katheterentnahme erforderlich. Sofort nach dem Urinlassen wird die Zeit genau auf die Minute aufnotiert. Dieser erste Urin kann weggegossen werden. Nach ca. 1 bis $1^1/_2$ bis 2 Stunden, aber wieder genau auf die Minute bestimmter Zeit, ist unter den gleichen Vorsichtsmaßregeln wieder Urin zu lassen und zwar ohne jeden Verlust zweckmäßig gleich in einen 100- bis 200-ccm-Maßzylinder, nachdem in der Zwischenzeit Blut für eine Harnstoff-N-Bestimmung im Serum entnommen wurde. Nach dem Erkalten der zweiten, zeitlich genau abgegrenzten Urinportion wird das Volumen genau in Kubikzentimetern bestimmt und sowohl im Blutserum wie in dieser zweiten Urinmenge eine in Gramm pro Liter Flüssigkeit zu berechnende Harnstoffbestimmung nach der bei der Harnstoff-N-Methodik[1]) näher beschriebenen Weise ausgeführt. Um einen Harnstoff-N-Wert in Harnstoff auszudrücken, ist die Harnstoff-N-Zahl mit 2,12 zu multiplizieren.

Es sei:

T = die Zeit zwischen der ersten und zweiten Blasenentleerung.
v = das Volumen des in dieser Zwischenzeit abgesonderten Urins.
V_{24} = die aus T und v auf 24 Stunden berechnete Urinmenge in Litern gemessen.

Die Bedeutung von C, D, und Ur ist schon oben genannt worden.
Ein praktisches Beispiel zeige die nähere Berechnung:

$T = 44$ Minuten.
$v = 68$ ccm.
$V_{24} = 2{,}23$ l.
$C = 5{,}7$ g Harnstoff pro Liter Urin.
$D = 12{,}72$ g Harnstoff in 24 Stunden.
$Ur = 0{,}18$ g pro Liter Serum.

$$K = \frac{0{,}18}{\sqrt{\frac{12{,}72 \cdot \sqrt{5{,}7}}{5}}} = \mathbf{0{,}073};$$

Eine etwas andere Methodik ist von Volhard vorgeschlagen worden, indem die Konstantebestimmung aus der Serum Rest-N- und der Gesamt-N-Bestimmung im Urin zu berechnen ist.

Aus dem normalen Verhältnis des Rest-N zum Sa.-H.-N im Blute, das etwa 2 : 1, und des Gesamt-N zum Sa.-H.-N im Urin, das etwa

[1]) Diese Zeitschr. **93**, 82, 1918.

1,2 : 1 beträgt, geht hervor, daß bei der Konstanteberechnung aus den Rest-N- und Gesamt-N-Analysen höhere Werte sich ergeben als mit den Harnstoffbestimmungen, wie folgendes Beispiel, verglichen mit dem gleichen obigen, zeigt.

$T = 44$ Minuten.
$v = 68$ ccm.
$V_{24} = 2{,}23$ l.
$C = 3{,}42$ ‰ Gesamt-N im Urin.
$D = 7{,}63$ g Gesamt-N in 24 Stunden.
$Ur = 0{,}26$ ‰ Rest-N im Serum.

$$K = \frac{0{,}16}{\sqrt{\frac{7{,}63 \cdot \sqrt{3{,}42}}{5}}} = 0{,}095\,;$$

Um ein Urteil über die Brauchbarkeit derartiger Bestimmungen zu erhalten, werde ich in folgenden die nach der erstgenannten Methodik ausgeführten Konstantebestimmungen nach der Größe der erhaltenen Konstantezahlen zusammenstellen.

Vor der Beurteilung folgender Zusammenstellung ist zunächst noch folgendes zu bemerken: Wenn auch sämtliche Bestimmungen und Berechnungen mit der größten Gewissenhaftigkeit ausgeführt wurden, so mag doch die eine oder die andere der Konstanten mehr oder weniger unrichtig sein, da man zu sehr auf eine manchmal recht zweifelhafte Beobachtung der gegebenen Anweisungen vonseiten der Patienten sich zu verlassen gezwungen ist. Ferner ist zu beachten, daß der Fehler bei dem oft unvermeidlichen Verluste von nur 1 bis 2 ccm Urin um so größer ist, je kleiner die zweite Urinportion ist. Es ist also, wie die beiden folgenden Beispiele zeigen, bis zu einer gewissen Grenze zweckmäßig, den Zeitabschnitt zwischen den beiden Urinentleerungen so groß zu wählen, daß eine möglichst große Menge Urin entleert wird, da dann der sonst gleichgroße Fehler prozentual viel kleiner wird.

Beträgt z. B. die gemessene zweite Urinmenge nach 20 Minuten 10 ccm, jedoch mit einem Verluste von 2 ccm, in Wirklichkeit also 12 ccm, so erhält man bei der Berechnung der 24stündigen Harnmenge in dem einen Falle 720 ccm, in dem anderen aber 864 ccm, also eine sehr große Differenz.

Beträgt nun aber die gemessene zweite Urinmenge nach 2 Stunden 60 ccm, wieder mit einem Verluste von 2 ccm, in Wirklichkeit also 62 ccm, so erhält man bei der 24stündigen Mengenberechnung in dem ersten Falle wieder 720 ccm, in dem zweiten 744 ccm, also eine für die Berechnung nur unwesentliche Differenz.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der verhältnismäßig noch recht wenigen Versuche mit der jeweiligen Art der Nierenerkrankung, so sieht man, daß offenbar Nephrosen und Nephritiden mit nephrotischem Einschlag unternormale Werte

Tabelle.

Lfd. Nr.	Namen	Datum der Bestimmung	Krankheit	Harnstoff im Blute *Ur*	Harnstoff im Urin *C* ‰	Harnstoff im Urin *D* g	Berechn. Konstant. *K*	Bemerkungen
1	Freund	15. V. 18	Nephrose	0,132	9,62	14,10	0,045	
2	Jüngling	3. VI. 18	Akut. N. mit nephrot. Einschlag	0,114	5,50	12,80	0,047	
3	Heck (R.-Laz. V)	22. VII. 18	Lebercirrhose	0,199	12,97	15,18	0,061	Nierengesd.
4	Leucht	27. III. 18	Prim. Hypertonie, arteriosklerot. im II. Dauerstadium	0,225	5,94	24,00	0,066	
5	Fr. Fischinger	6. VI. 18	Nephrose	0,239	14,10	17,25	0,066	
6	Schnitter	17. V. 18	Diff. Gl. Nephr.	0,150	5,56	8,82	0,073	
7	Ruff	19. VI. 18	Luetische Nephrose	0,180	5,70	12,72	0,073	
8	Wirth	3. VIII. 17	—	0,288	12,25	19,70	0,073	Gesund
9	Hoferer	3. IV. 18	Eiweißausscheidung nach Paratyphus	0,276	14,00	14,80	0,083	
10	Sommer	10. VII. 18	Akut. diff. Gl. Nephr.	0,344	11,25	21,50	0,090	
11	Gossel	20. III. 18	" " " "	0,155	2,67	7,52	0,093	
12	Lehr	10. VIII. 17	—	0,320	12,00	14,90	0,100	Gesund
13	Lorch	17. VI. 18	Nierenschrumpfung	0,250	5,85	11,95	0,104	
14	Frl. Holch	4. VI. 18	Akute Gl. Nephritis	0,330	20,80	10,00	0,109	
15	Lehr	2. VIII. 17	—	0,320	8,23	12,95	0,117	Gesund
16	Siegel	1. VI. 17	Akute Gl. Nephritis	0,416	9,93	18,30	0,122	
17	Joos	15. III. 18	Akut. diff. Gl. Nephr.	0,720	16,70	31,50	0,142	† im Juli
18	Fr. Baumann	17. VI. 18	Chron. Gl. Nephritis	0,305	9,35	6,30	0,156	
19	Brand	4. VI. 17	" " "	0,382	5,70	12,10	0,157	
20	Baranski	1. VIII. 17	— (?)	0,420	10,18	10,57	0,167	Gesund (?)
21	Obladen	9. VI. 17	Akut. Stad von	0,224	2,73	10,47	0,680	Akut. Stad.
22	"	19. VI. 17	Diff. Gl. Nephritis	0,258	5,23	5,10	0,169	In Heilung.
23	Dr. Schmitt	9. VII. 18	Chron. Gl. N. II. Stad. m. Blutdruckerhöhg.	0,508	11,25	12,45	0,179	Blutdruck erhöht vor d. Erkrank.
24	Bründl	22. V. 18	Diff. Gl. Nephritis	0,300	5,16	4,72	0,205	
25	Finke	3. VI. 18	Akut. diff. Gl. Nephr.	0,516	7,22	7,88	0,205	
26	Weigel	5. VI. 17	Diff. Gl. Nephritis	0,640	7,32	17,50	0,208	
27	Dreher	10. IV. 18	Akut. diff. Gl. Nephr.	0,833	30,20	13,00	0,220	
28	Feltes	5. VI. 17	" " " "	0,520	3,68	14,00	0,220	
29	Schupp	10. IV. 18	Chron. Gl. Nephritis	0,582	9,22	5,64	0,314	
30	Mußler	4. VI. 18	Sek. Schrumpfniere	0,780	3,86	4,20	0,608	†
31	Goldstein	21. VI. 17	" "	1,550	3,82	10,27	0,775	†
32	Fr. Herbel	17. VI. 18	" "	1,84	5,10	11,60	0,800	†

(0,04 bis 0,05) zeigen, was dem für Nephrosen charakteristischen niederen Rest-N-Gehalt des Blutes entspricht, während die Werte von 0,07 bis 0,10 den Gesunden oder doch nur leicht Erkrankten zu entsprechen scheinen. Aus den Versuchen 12 und 15, 21 und 22 sieht man, daß wiederholt ausgeführte Bestimmungen offenbar auch Aufschluß über eine etwa eingetretene Besserung oder Verschlimmerung der Niereninsuffizienz geben würden,

während die mit dem Tode endenden Fälle 8- bis 10fach erhöhte normale Werte zeigen.

Die Hauptbedeutung der Konstantebestimmung für die Praxis liegt vielleicht darin, daß es möglich ist, die „Größe des funktionsfähigen Nierenrestes“ (Volhard) zahlenmäßig auszudrücken. Betrachtet man den normalen Konstantewert $K_n = 0{,}07$ als Zeichen einer normalen Nierenfunktion, so kann man auf Grund der Formel: $\frac{Ur}{\sqrt{D_{25}}} = K_n = 0{,}07$ berechnen, wie groß bei einem gegebenen Ur Gehalt des Serums $D_{25}\left(= \frac{D' \cdot \sqrt{C}}{5}\right)$ im Urin sein müßte, d. h. bestimmen, wie vielmal weniger die kranke Niere gegenüber der normalen noch leistet. Ist der Ur Gehalt des Serums z. B. 1 g, so müßte D_{25} im Urin $= 208$ g sein; beträgt aber D_{25} in Wirklichkeit nur z. B. 50 g und damit die gesuchte Konstante $K_x = 0{,}1414$, so hat die kranke Niere nur noch den $\frac{\sqrt{50}}{\sqrt{208}} = \frac{7{,}07}{14{,}28} = 0{,}495$ oder auch $\frac{K_n}{K_x} = \frac{0{,}07}{0{,}1414} = \mathbf{0{,}495}$ ten Teil der normalen Funktionsfähigkeit; in anderen Worten ausgedrückt: Das funktionelle Defizit der kranken Niere beträgt etwa $50\,\%$.

Wie jedoch schon oben angedeutet, ist zur richtigen Beurteilung der Brauchbarkeit derartiger Berechnungen ein noch viel größeres Material erforderlich.

Über die Verbreitung der Glycerophosphatase in den Samenorganismen.

Von

Anton Němec.

(Aus dem Institut für Agrochemie und Pflanzenproduktionslehre der k. k. böhm. techn. Hochschule in Prag.)

(Eingegangen am 30. September 1918.)

Die organischen Ester der Phosphorsäure spielen bei dem Gesamtstoffwechsel der Pflanzenzelle eine hervorragende Rolle. Es ist neben dem Phytin und den Estern der Phosphorsäure mit den Kohlenhydraten namentlich die Glycerinphosphorsäure, die den wesentlichen Bestandteil der Phosphatide, besonders des Lecithins bildet.

Die ersten Beobachtungen über die Verbreitung und physiologische Bedeutung des Lecithins im Pflanzenorganismus finden wir in den Arbeiten Maxwells[1]) und Stoklasas[2]). Letztgenannter Forscher wies auf das interessante Faktum hin, daß Lecithin in allen Organen der Pflanze gesammelt wird, mit der Zeit der Keimung beginnend bis zur Befruchtung, binnen der Fruchtbildung fängt es aber an zu schwinden, um sich schließlich wieder in dem Samen abzusetzen. Bei der Samenkeimung im Lichte geht mit der Chlorophyllbildung eine Lecithinvermehrung parallel[3]) vor sich, umgekehrt aber gleichlaufend mit dem Zerstören des grünen Blattfarbstoffes infolge Eliminierung des Sonnenlichtes sinkt auch die Lecithinmenge wieder, was in Bezug auf die Chlorolecithinhypothese von Stoklasa[4]) nicht überraschen kann. Es ist begreiflich, daß bei den etiolierten Keimpflanzen, in denen die Prozesse der regressiven Stoffmetamorphose vorwiegen, nicht bloß die Kohlenhydrate, Fette und Eiweißstoffe, sondern auch die Phosphatide einer Zersetzung

---

[1]) Maxwell, Amer. Chem. Journ. **13**, 16 u. 428, 1891.

[2]) Stoklasa, Sitzungsber. Wien. Akad. der Wissensch. **105**, 604, 1896.

[3]) Bernardi u. Chiarulli, Staz. sperim. agrar. ital. **42**, 97, 1908.

[4]) Stoklasa, Beihefte zum Bot. Centralbl. **30**, I, 167, 1913.

unterliegen. Es wurde schon durch Schulze und Winterstein[1]) die Meinung ausgesprochen, daß ähnlich wie im Tierorganismus auch in der Pflanzenzelle diese Spaltung durch Enzyme bewirkt wird.

Für eine enzymatische Spaltungsfähigkeit der Phosphatide haben übrigens schon die von Stoklasa[2]) durchgeführten Versuche über die Assimilation des Lecithins durch das Wurzelsystem der höheren Pflanzen gesprochen.

Diese Arbeiten fanden in neuerer Zeit Bestätigung durch die Versuche Zlataroffs[3]), der beobachtete, daß infolge der Resorption des Lecithins aus wäßeriger Emulsion durch das Wurzelsystem die Keimpflanzen Cicer arietinum im Lichte zwei bis dreimal so schnell wuchsen als die Kontrollpflanzen im Parallelversuche mit destilliertem Wasser. Aso und Yoshida[4]) halten auf Grund ihrer Vegetationsversuche, die mit Gerste, Erbsen und Raps durchgeführt wurden, den Düngungswert des Lecithins mit dem Ion der Phosphorsäure für gleichwertig. Dagegen behauptet aber Schulow[5]), daß die Phosphorsäure aus Lecithinemulsion in Wasserkulturen von Erbsen und Weizen nicht resorbiert wurde, falls man dafür gesorgt hat, daß die Pflanzen, die oberirdischen Organe ausgenommen, streng steril gehalten werden. Die Phosphorsäure des Phytins war bei seinen Versuchen der Pflanze weit zugänglicher.

Die natürliche Voraussetzung der Resorption des Lecithinphosphors und seine Einführung in den Kreis der Lebensprozesse zwecks Bildung neuer lebender Moleküle ist die Möglichkeit seiner Zersetzung, d. h. Veränderung in diffusionsfähige Spaltprodukte. Die Fähigkeit einer enzymatischen Zersetzung des Lecithins ist im Tierorganismus verhältnismäßig gut bekannt. Der erste Beweis der enzymatischen Spaltung der Phosphatide im Organismus der Pflanzen wurde von Iwanoff[6]) und P. Mayer[7]) erbracht.

Ersterer zeigte sie für den Gesamtorganismus durch Autodigestionsversuche mit Keimpflanzen von Phaseolus multiflorus. Die rein fermentative Spaltung des Lecithins durch einige pflanzliche Enzyme hat

---

[1]) Schulze u. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chemie **40**, 117, 1903.

[2]) Stoklasa, Sitzungsber. Wien. Akad. der Wissensch. **104**, 712, 1895.

[3]) Zlataroff, diese Zeitschr. **75**, 200, 1916.

[4]) Aso u. Yoshida, Journ. Coll. Agric. Tokyo **1**, 153, 1909.

[5]) Schulow, Ber. deut. bot. Ges. **31**, 97, 1913.

[6]) Iwanoff, Über die Umwandlungen des Phosphors in der Pflanze im Zusammenhange mit der Eiweißverdauung (russisch); zit. nach Zaleski, Ber. deut. bot. Ges. **24**, 285, 1906.

[7]) Paul Mayer, diese Zeitschr. **1**, 39, 1906.

P. Mayer[1]) bewiesen; dieser machte zugleich auf das interessante Faktum aufmerksam, daß bei der Spaltung der racemischen Form des Lecithins durch Steapsin nur die in der Natur vorkommende d-Komponente in Fettsäuren, Cholin und d-Glycerinphosphorsäure zerlegt wird, während l-Lecithin intakt bleibt und aus dem Reaktionsgemische isoliert werden kann[1]). Schumow-Simanowski und Sieber[2]) haben später eine Lipase pflanzlichen Ursprungs zubereitet, und zwar aus den Ricinussamen, die vielleicht durch Einwirkung einer spezifischen Lecithase die Spaltung des Lecithins in Cholin, Fettsäuren und Glycerinphosphorsäure vollbringt. Ob aber diese Glycerinphosphorsäure ihren Anteil an den Vitalprozessen der Zelle als solche nimmt, oder ob sie zuvor noch einer tieferen Spaltung unterliegt, ist nicht bekannt.

Grosser und Hußler[3]) haben den Beweis geliefert, daß die Glycerinphosphorsäure durch gewisse Tierorgane in ihre Bestandteile Glycerin und Phosphorsäure enzymatisch gespalten wird, und zwar konnten sie das entsprechende Enzym, die Glycerophosphatase, in den Nieren, der Darmschleimhaut, Lunge und in der Leber, spurenweise auch in der Milz nachweisen, während Pankreas, Muskeln und Blut bei der Forschung nach diesem Enzyme ein negatives Resultat ergaben. Dieses Ferment wurde durch die genannten Forscher auch in Faeces, keineswegs aber in ihrer bakteriellen Flora und im Harn nachgewiesen. Es hat sich gezeigt, daß die Glycerophosphatase mit den bekannten Fermenten des Tierorganismus nicht identisch ist, obzwar Erepsin wahrscheinlich infolge einer Beimengung ein sehr beträchtliches Spaltungsvermögen gezeigt hat. Die Glycerophosphatase des Tierorganismus wirkt nach Grosser und Hußler (l. c.) nicht nur auf die natürliche, optisch aktive Glycerinphosphorsäure, die durch Verseifung des Lecithins gewonnen wird, sondern auch ihre synthetische, inaktive Form spaltet, ja die genannten Autoren haben durch Einwirkung des Organpulvers der Niere und der Darmschleimhaut merkwürdigerweise bis 100 %ige Spaltung der inaktiven Form erzielt.

Im Pflanzenorganismus war die Zersetzung der Glycerinphosphorsäure schon zuvor von Neuberg und Karczag[4]) bei der Hefe festgestellt worden, die gemäß ihren Angaben fast 50 % der inaktiven Glycerinphosphorsäure spaltet. Neuberg und Karczag sind überhaupt die ersten gewesen, welche die enzymatische Zersetzung der Glycerinphosphorsäure in der Natur aufgefunden haben.

Bei den höheren Pflanzen ist sodann die Spaltung dieser Säure nur

---

[1]) Paul Mayer, Berl. klin. Wochenschr. 1905, zit. nach Zaleski (l. c).

[2]) Schumow-Simanowski u. Sieber, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 50, 1906.

[3]) Grosser und Hußler, diese Zeitschr. **39**, 1, 1912.

[4]) Neuberg und Karczag, diese Zeitschr. **36**, 60, 1911.

in einem einzigen Falle beobachtet, und zwar bei den Ricinussamen. Mit dem Studium der Lipase dieser Samen sich beschäftigend, gewann Falk gemeinschaftlich mit Sigiura[1]) aus den Ricinussamen durch Extraktion mit Wasser eine Esterase, die wahrscheinlich mit der Glycerophosphatase identisch ist. Was ihre chemische Konstitution anbelangt, so hält Falk[2]) diese Esterase für einen proteinartigen Stoff; während aber die Lipase dieser Samen ein Globulin zu sein scheint, zeigt die Esterase Eigenschaften eines Albumins.

Bei dem Studium der Enzyme des Pflanzenorganismus bin ich, ohne daß mir die genannte Arbeit Falks bekannt war, zu der interessanten Erkenntnis einer großen Verbreitung der Glycerophosphatase im Organismus ruhender Samen der Kulturpflanzen gekommen. Die Resultate meiner experimentellen Studien führe ich in dem folgenden Abschnitte dieser Arbeit an.

Die Versuchsmethodik

war im allgemeinen dieselbe, die von Neuberg und Karczag[3]) benutzt wurde. Die Versuche wurden mit der käuflichen inaktiven 50 %igen Glycerinphosphorsäure in Form ihres Natriumsalzes (E. Merck) durchgeführt, welches in der Regel keine Reaktion auf das Ion der Phosphorsäure gab. Die enzymatische Spaltung wurde in 1 %iger Lösung dieses Salzes verfolgt, die zu jedem Versuche frisch bereitet wurde.

In 100 ccm dieser Lösung wurde zuerst die Menge der gesamten Phosphorsäure durch Verbrennung nach Neumann[4]) bestimmt. Es wurde durchschnittlich in 100 ccm 1 %iger Lösung

$$0{,}5599 \text{ g } Mg_2P_2O_7 = 0{,}3572 \text{ g } P_2O_5$$

gefunden. Theoretisch enthalten 100 ccm dieser Lösung 0,3591 g P_2O_5.

Bei den eigentlichen Versuchen wurde die Zersetzung der Glycerinphosphorsäure durch Bestimmung des freigewordenen Phosphorsäureions verfolgt. Glycerin wurde nicht bestimmt. Es wurde also folgenderweise gearbeitet:

---

[1]) Falk und Sigiura, Journ. Amer. Chem. Soc. **37**, 217; zit. nach Chem. Centralbl. **86**, 1, 1271, 1915.

[2]) Falk, Proc. Acad. Nat. Sc. Boston **1**, 136; zit. nach Ref. Centralbl. f. Bioch. u. Biophys. **18**, 186, 1915.

[3]) Neuberg u. Karczag, l. c.

[4]) Neumann, Zeitschr f. physiol. Chem. **37**, 115, 1912.

In einen Erlenmeyerschen Kolben ca. 300 ccm Inhalts wurden 5 g gemahlener oder zerquetschter Samen eingewogen und mit 100 ccm 1 %iger Lösung von Natriumglycerophosphat im sterilen Wasser vermischt. Die Bakterientätigkeit wurde durch Zufügen von 2 ccm Toluol ausgeschaltet. Das Gemisch wurde im Thermostat bei 25° 48 Stunden der Zersetzung ausgesetzt. Nach Ablauf dieser Frist wurde der Versuch unterbrochen, die Lösung filtriert unter event. Zusatz von Kaolin und einigen Tropfen Essigsäure zwecks Adsorption ungelöster Bestandteile. In den meisten Fällen, wo das Filtrat trotzdem Spuren von kolloiden Trübungen aufwies, wurde es durch einen Tropfen Ammoniak aufgeklärt. Aus dem völlig klaren Filtrate wurden 20 ccm abpipettiert und die freigewordene Phosphorsäure durch Magnesiamixtur in der Kälte gefällt und zwecks quantitativer Ausscheidung des Niederschlages mindestens 24 Stunden stehen gelassen. Erst dann wurde das ausgeschiedene Magnesiumammoniumphosphat filtriert, ausgewaschen und zur Reinigung wieder in Salpetersäure gelöst. Hierauf wurde das Filtrat mit der Molybdänsolution in Ammoniumphosphomolybdat verwandelt, filtriert, wieder ausgewaschen, am Filter im warmen verdünnten Ammoniak gelöst, im Filtrate von neuem die Phosphorsäure mit Magnesiamixtur nach Schmitz gefällt und als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Es wurde aber beobachtet, daß 1 %ige Lösung des Natriumglycerophosphates während 48 Stunden im Thermostat bei 25° durch Einwirkung der ammoniakalischen Magnesiamixtur eine geringe Menge Ammoniummagnesiumphosphat abscheidet:

100 ccm 1 %ige Lösung ergaben 0,0023 g $Mg_2P_2O_7$
ist gleich 0,0014 g P_2O_5.

Die Samen enthalten im Ruhestadium nur spurengleiche Mengen anorganischer Phosphate, wie Schulze und Castoro[1]) gefunden haben. Es mußte aber stets ein Kontrollversuch angestellt werden, bei dem jene Phosphorsäure bestimmt wurde, die aus den Phosphor enthaltenden Eiweißstoffen, Phosphatiden, Phytin und anderen organischen Stoffen des Samens binnen 48 Stunden bei 25° durch Einfluß der autolytischen Enzyme abgespalten wird.

Diese Bestimmung wurde in der Weise ausgeführt, daß 5 g der zerriebenen Samen mit sterilem Wasser vermengt und nach Zusatz von 2 ccm Toluol bei 25° 48 Stunden im Thermostat belassen wurden. Die Bestimmung des Phosphations wurde nach der schon angeführten Methode ausgeführt.

Es wurden auch Versuche angestellt, bei denen die Labilität des Enzyms gegen die Wärme gezeigt wird.

Bei diesen Versuchen wurden 5 g der zerriebenen Samen in einem 100 ccm-Meßkolben mit sterilem Wasser eine Viertelstunde erhitzt und der Kolben mit Wattepfropfen verstopft erkalten gelassen. Sodann wurden 2 ccm Toluol und soviel Natriumglycerophosphat zugegeben,

---

[1]) Schulze u. Castoro, Zeitschr. f. physiol. Chemie 41, 475, 1904.

daß nach Einfüllung bis zur Marke die Lösung 1 %ig wird. Nach 48 stündigem Verbleiben bei 25° wurde die Phosphorsäure nach dem üblichen Verfahren bestimmt.

Ich führe hier einen Versuch mit Sinapis alba an:

Durch autolytische Enzyme abgespaltenes P_2O_5 . . . . 29,97 mg

Durch Einwirkung der Enzyme des Samens abgespaltene Menge P_2O_5 aus 100 ccm Glyc.-phosph. Na. . . . . 178,93 „

Es wurden daher durch Einwirkung der Glycerophosphatase . . . . 148,96 „ P_2O_5 abgespalten.

Nach der Enzymzersetzung durch Kochwärme wurde durch die Samen aus 1 %iger Lösung von Natriumglycerophosphat . . . . 10,76 „ P_2O_5 abgespalten.

Aus diesen Daten ist ersichtlich, daß die Samen durch Kochhitze die Fähigkeit, Glycerinphosphorsäure zu zersetzen, wahrscheinlich infolge Zerstörung des betreffenden Enzyms, eingebüßt haben.

In der folgenden Tabelle ist eine Übersicht der Resultate meiner Versuche über die Spaltung der Glycerinphosphorsäure durch Glycerophosphatase der Samen einiger Kulturpflanzen enthalten. Die zweite Kolonne gibt die Menge der autolytisch abgespaltenen Phosphorsäure an, die vierte dann die Menge

Der Same	Menge P_2O_5 in mg, abgespalten aus 5 g Samen während 48 Stunden bei 25°			
	bei Autodigestion in wässerig. Medium	in 1 %iger Lösung Natriumglycerophosphat	aus der Glycerinphosphorsäure in mg	%
Hordeum distichum .	13,07	16,90	3,83	1,07
Secale cereale	14,67	18,81	4,14	1,15
Avena sativa	15,30	19,45	4,15	1,16
Lupinus angustifolius .	29,66	46,18	16,52	4,62
Zea Mays	16,26	68,89	52,63	14,73
Vicia Faba	25,19	84,84	59,65	16,69
Picea excelsa	17,23	79,74	62,51	17,50
Prunus communis . .	33,49	112,91	79,42	22,23
Cannabis sativa . . .	19,46	104,29	84,83	23,74
Papaver somniferum .	16,14	110,04	93,90	26,56
Lens esculenta . . .	15,95	118,01	102,06	28,62
Polygonum fagopyrum	21,37	123,75	102,38	28,66
Helianthus annuus . .	24,88	129,17	104,29	29,19
Pisum sativum . . .	17,22	125,99	108,77	30,45
Ricinus communis . .	19,14	132,36	113,22	31,69
Linum usitatissimum .	21,36	136,83	115,47	32,32
Brassica napus . . .	24,56	144,48	119,92	33,57
Raphanus sativus . .	27,75	149,90	122,15	34,19
Sinapis alba	31,25	178,93	147,68	41,34
Glycine hispida . . .	27,75	206,36	178,61	49,97

des Phosphorsäureions, die aus der zugegebenen Glycerinphosphorsäure stammt. In der letzten Spalte führe ich die Tiefe der Glycerinphosphorsäurezersetzung in Prozenten ausgedrückt an.

Aus der angeführten Tabelle geht hervor, daß von den geprüften Samen die Cerealien die kleinste, fast verschwindende Zersetzungsfähigkeit besitzen. Ganz anders ist der Fall schon bei den Leguminosen. Diese bewirken im allgemeinen eine bedeutende Spaltung, aber der quantitative Bereich differiert ziemlich je nach dem speziellen Charakter des Samens. So z. B. bei der Linse und bei der Erbse wurde eine tiefere Spaltung beobachtet als bei der Lupine und Bohne. Ungemein reich an Glycerophosphatase in aktiver Form sind die Cruciferensamen, von denen Raps, Rettig und Senf der Untersuchung unterworfen wurden. Bei diesen Samen erreicht die Tiefe der Spaltung der inaktiven Glycerinphosphorsäure bis 41 $^0/_0$. Die größte Menge der Glycerophosphatase ist aber in den Samen der Sojabohne entdeckt worden, denn durch deren Einwirkung wurden beinahe 50 $^0/_0$ der synthetischen Glycerinphosphorsäure zerlegt.

Im allgemeinen kann man beobachten, daß die ölhaltigen Samen eine stärkere enzymatische Zersetzung verursachen, und daher können wir bei ihnen auf einen größeren Gehalt an Glycerophosphatase schließen als bei den eiweißführenden Samen, die aber wieder ein größeres Spaltungsvermögen zeigen als die stärkehaltigen Gramineen.

Es scheint, daß ähnlich wie Steapsin bei der racemischen Form des Lecithins nur die natürliche rechtsdrehende Komponente spaltet, auch die Glycerophosphatase der Samen die Fähigkeit besitzt, bloß die in der Natur vorkommende d-Glycerinphosphorsäure anzugreifen. Denn der Umfang der Zersetzung hat nicht nur in den hier erwähnten Versuchen, sondern auch bei den früheren von Neuberg und Karczag (l. c.) niemals 50 $^0/_0$ überschritten. Die genaue Bestätigung dieser Hypothese werden erst die experimentellen Befunde bei näherer Untersuchung dieses Enzyms bringen. Übrigens sind ähnliche Beziehungen zwischen chemischer Konfiguration des Substrats und dessen Spaltfähigkeit durch Enzyme jetzt öfter beobachtet und können nicht mehr überraschen.

Über die Verwertbarkeit der Hefe im tierischen Organismus.

Bemerkungen zu der Arbeit von E. Schill.[1])

Von

W. Völtz.

(Aus der ernährungs-physiologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe der Kgl. Landw. Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 5. Oktober 1918.)

Nahrungs- und Futterhefen gelangen entweder im getrockneten oder im gekochten Zustande, also stets abgetötet, zum Verzehr. E. Schill hat seine Ausnutzungsversuche mit ganz frischer, also lebender Hefe an Hunden durchgeführt. Er findet eine wesentlich schlechtere Verdaulichkeit und Ausnutzung der Hefenährstoffe, wie sie von allen Autoren, die Trockenhefepräparate verfüttert haben, ermittelt worden sind. Die Schillschen Zahlen können daher für die Resorbierbarkeit und Verwertung der Nahrungs- und Futterhefen nicht maßgebend sein, und das kommt in seiner Veröffentlichung nicht genügend zum Ausdruck.

Schill fand folgende Werte für die Verdaulichkeit und Ausnutzung der Hefenährstoffe:

Tabelle I.

	Versuchsreihe	Es wurden resorbiert: Gesamtnährstoffe %	Es wurden resorbiert: Stickstoff %	Physiologischer Nutzwert: direkt ermittelt %	Physiologischer Nutzwert: auf das Stickstoffgleichgewicht berechnet %
Die Hefe wurde als ausschließliche Nahrung gereicht.	A	—	66	—	—
	D	62,1	76	50,7	50,9
Die Hefe wurde als Zulage zu anderem Futter gegeben.	B	47,1	40	47,2	53,2
	C	71,1	75	68,3	60,5
	Mittel:	**60,3**	**64,2**	**55,4**	**54,9**

[1]) Diese Zeitschr. 87, 163, 1918.

Die sehr schlechte Resorption des Hefestickstoffs in der Versuchsreihe B führt Schill „auf die gesteigerte Darmperistaltik des Tieres zurück, das sehr häufig weichen, beinahe dünnbreiigen Kot entleert hatte".

Für Trockenhefepräparate hatte ich, zum Teil in Gemeinschaft mit meinen Mitarbeitern, an Hunden dagegen folgende Werte für die Verdaulichkeit und Ausnutzung der Hefenährstoffe gefunden[1]):

Tabelle II.

Hefeart	Organische Substanz %	Rohprotein %	Rohfett %	Kohlenhydrate %	Calorien %	Physiologischer Nutzeffekt %
Aceton Dauerhefe .	—	87,0	—	—	70,2	—
Brauereihefe . . .	76,8	89,0	75,2	51,6	78,9	69,2
Mittel:		**88,0**			**74,4**	
Mineralhefe[2]) . . .	71,1	85,0	34,1	54,5	71,8	60,4
„ . . .	70,3	83,5	47,0	47,9	71,8	59,6
Mittel:	**70,7**	**84,2**	**40,6**	**51,2**	**71,8**	**60,0**

Setzen wir die für die Trockenhefepräparate gefundenen Werte (Tabelle II) gleich 100, so wurden die Nährstoffe der von Schill verfütterten lebenden Hefezellen schlechter resorbiert bzw. ausgenutzt:

	Calorien %	Stickstoff %	Nutzbare Calorien %
Im Vergleich zu der Brauereihefe um	19,3	27,0	20,5
Im Vergleich zu der Mineralhefe um	16,0	23,7	8,3

Es liegt nahe, die wesentlich schlechtere Ausnutzung der Frischhefe darauf zurückzuführen, daß die lebenden Hefezellen von den Verdauungsfermenten des Tierkörpers weniger leicht angegriffen werden als abgetötete Hefezellen. Schill hat sich in diesem Sinne ausgesprochen. Es käme weiter in Betracht,

[1]) W. Völtz, Über die Verwertung der Hefe als Nährmittel für Mensch und Tier. Die Naturwissenschaften, Heft 47, 1916, und A. Deutschland, Untersuchungen über die Verdaulichkeit der Nährhefe, diese Zeitschr. 78, 358 bis 370, 1917.

[2]) Diese Hefe wird nach dem Verfahren des Instituts für Gärungsgewerbe gewonnen. Da außer Melasse nur anorganische Salze zur Nährlösung verwendet werden, wird die Hefe als Mineralhefe bezeichnet.

daß die Hefezellen den Verdauungsapparat zum Teil noch völlig unverdaut und evtl. sogar noch lebend verlassen und insbesondere dann, wenn ihre Aufenthaltsdauer im Tierkörper eine relativ kurze ist, wie das für Fleischfresser zutrifft.

Um diese Fragen zu entscheiden, wurden die folgenden Versuche ausgeführt.

1. Versuch am 8. VI. 1918.

Eine zirka 10 kg schwere ausgewachsene Hündin erhielt am 6. und 7. VI. als ausschließliches Futter eine größere Knochenportion. Am folgenden Tage wurden ihr morgens 9 Uhr mittels einer Schlundsonde 250 g frische, in Wasser aufgeschwemmte Reinzuchtpreßhefe in den Magen eingeführt. Zirka 6 Stunden später erhielt das Tier wiederum Knochen. $6^1/_2$ Stunden nach der Hefezufuhr wurde der erste Kot abgesetzt. Derselbe war geformt und bestand, von den peripheren, mit Darmsekreten durchsetzten Partien abgesehen, aus reiner Hefe. Herr Professor Henneberg, Vorsteher der bakteriologischen Abteilung des Instituts für Gärungsgewerbe, hatte die Liebenswürdigkeit, die mikroskopischen Untersuchungen und die Triebkraftbestimmungen mit dem Hefekot auszuführen. Ich spreche auch an dieser Stelle Herrn Professor Henneberg für seine Mühe meinen besten Dank aus. Er teilte mir die nachstehenden Befunde mit.

Die Hefe der ersten Kotfraktion ($6^1/_2$ Stunden nach dem Verzehr) war von normaler Beschaffenheit, sämtliche Hefezellen waren im lebenden Zustand.

Die Triebkraftbestimmungen nach Kusserow-Hayduck[1]) ergaben:

	Kubikzentimeter CO_2 nach				
	$^1/_2$ Stde.	$^1/_2$ Stde.	$^1/_2$ Stde.	$^1/_2$ Stde.	Sa. nach 2 Stdn.
Kothefe	41	39	137	258	475
Bei einer unter gleichen Bedingungen gezüchteten Hefe aus der Fabrik	0	160	160	200	520

Hiernach hatte also die Triebkraft der Hefe durch ihren $6^1/_2$stündigen Aufenthalt im Tierkörper nur wenig gelitten.

In der zweiten Kotfraktion, die innerhalb 15 bis 20 Stunden nach der Hefezufuhr abgesetzt wurde, waren sämtliche Hefezellen krank, doch noch lebendig. Der an der Knochenabgrenzung haftende Restkot enthielt 80% toter Hefezellen.

---

[1]) 10 g Hefe in 400 ccm reiner 10%iger Zuckerlösung bei 30° im Apparat von Hayduck-Kusserow.

2. Versuch am 13. VI. 1918.

Stoffwechselversuch an derselben 10 kg schweren Hündin.

Dieser Versuch wurde von mir unter Mitwirkung von Herrn C. Fredholm durchgeführt. Es wurden die Verdaulichkeit der organischen Substanz und des Rohproteins (Stickstoff × 6,25) direkt bestimmt.

Die zu dem vorliegenden Versuch benutzte Frischhefe enthielt: 24,66 % Trockensubstanz, 1,57 % Asche, 23,09 % organische Substanz und 11,27 % Rohprotein (N × 6,25).

Die mittels Schlundsonde eingeführte Frischhefe wog 241,2 g. Die am Trichter und an der Sonde haftenden kleinen Hefemengen wurden mit destilliertem Wasser quantitativ abgespült und bei 108° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Es wurden 0,4643 g Hefetrockensubstanz ermittelt. Da die Preßhefe 24,66 % Trockensubstanz enthielt, so entsprechen den 0,4643 g Hefetrockensubstanz 1,88 g Frischhefe. Hiernach hatte die Hündin wirklich erhalten 241,2 — 1,88 = 239,32 g Frischhefe.

Zur Abgrenzung der Faeces dienten wie bei den früheren Versuchen Knochen.

Die erste Kotfraktion wurde nach 9½ Stunden abgesetzt und enthielt nach der Untersuchung von Prof. Dr. Henneberg 5 % lebende, 20 % kranke und 75 % tote Hefezellen. In dem Restkot, der innerhalb 12 bis 24 Stunden nach der Futteraufnahme produziert wurde, waren alle Hefezellen abgestorben. Die Kotabgrenzung gelang vollkommen.

Das Gewicht des lufttrockenen Kotes betrug 30,80 g, derselbe enthielt: 95,53 % Trockensubstanz, 11,67 % Asche, 83,86 % organische Substanz und 46,82 % Rohprotein.

Aus diesen Zahlen berechnet sich die Verdaulichkeit der Hefenährstoffe wie folgt:

	Trockensubstanz	Organische Substanz	Protein
Einnahme: 239,32 g Frischhefe . . .	59,2 g	55,26 g	26,98 g
Ausgabe: 30,80 g Kot	29,42 g	25,83 g	14,42 g
Also resorbiert	25,60 g	29,43 g	12,56 g
	43,4 %	**53,3 %**	**46,6 %**

Dem mikroskopischen Befunde entsprechend war also die Resorption der Hefenährstoffe eine durchaus ungenügende. Im Vergleich zu der getrockneten Brauereihefe (Tabelle II) wurde hier die organische Substanz der Frischhefe um 30,6 % und das Hefeneiweiß um 47,6 % schlechter verdaut. Je nach der Aufenthaltsdauer des Chymus im Verdauungstraktus wird man höhere oder niedrigere Verdauungswerte als die hier beobachteten zu erwarten haben. Die schlechte Resorbierbarkeit der Frischhefe schließt ihre Verwendung als Nähr- und Futterhefe im lebenden Zustande aus. Es kommt hinzu, daß große Gaben Frischhefe infolge starker CO_2-Bildung unter Umständen zu Erkrankungen der

Haustiere führen können. Es ist nach der Verfütterung von Frischhefe wiederholt Tympanie bei Rindern und Schafen beobachtet worden.

Ergebnisse:

1. Lebende Hefezellen gelangten nach $6^1/_2$ stündigem Aufenthalt im Verdauungstraktus des Hundes noch lebend und in ihrer Triebkraft fast ungeschwächt mit dem Kot zur Ausscheidung.

2. Nach $9^1/_2$ stündigem Verweilen im Körper des Hundes waren die Hefezellen zum größeren Teil abgestorben und etwa zur Hälfte verdaut. Der Hefekot enthielt noch $5^0/_0$ lebende, $20^0/_0$ kranke und $75^0/_0$ tote Hefezellen. Die Verdauungswerte für die Hefenährstoffe waren entsprechend niedrig und betrugen für die organische Substanz der Hefe $53,3^0/_0$ und $46,6^0/_0$ für das Hefeeiweiß.

3. Die mangelhafte Resorption der Hefe bei ihrer Verfütterung im lebenden Zustande und die Gefahr, daß bei der Verabreichung großer Mengen infolge starker CO_2-Produktion Tympanie bei Wiederkäuern eintreten kann, bedingt ihre Verwendung als Nähr- und Futterhefe ausschließlich im abgetöteten Zustand. Das schließt natürlich den Genuß lebender Hefezellen in dosierten Mengen für therapeutische Zwecke nicht aus.

Über die Bedeutung der Proteinkomponente bei den Präcipitinreaktionen der Azoproteine.

XIII. Mitteilung über Antigene.

Ausgeführt mit Unterstützung der Fürst-Liechtenstein-Spende.

Von

Karl Landsteiner.

(Aus der Prosektur des Wilhelminenspitals in Wien.)

(Eingegangen am 1. Oktober 1918.)

In Fortsetzung der vorhergehenden Mitteilung[1]), auf die ich hiermit verweise[2]), habe ich untersucht, welchen Einfluß die Variation der zur Kupplung benützten Proteine auf die Reaktionsergebnisse ausübt. Es wurde in der erwähnten Mitteilung schon angeführt, daß die aus Serumeiweiß und Edestin hergestellten Substanzen sich in bezug auf die durch die Azokomponenten bedingte Spezifizität so gut wie identisch verhielten und die Beschreibung des Verhaltens anderer Eiweißkörper in Aussicht gestellt. Namentlich sollten auch solche Proteine, die in ihrem Gehalt an den zur Kupplung befähigten Gruppen — Tyrosin, Histidin — sich unterscheiden, berücksichtigt werden.

Zur Kupplung wurden zwei Azokomponenten verwendet, nämlich Metanilsäure und p-Arsanilsäure. Die Kupplung wurde so vorgenommen, wie es in der zitierten Mitteilung beschrieben ist, und die Menge der Sodalösung und des Diazokörpers so bemessen wie dort, nur wurde abgesehen von den Präparaten aus Kaninchenserum an Stelle des Serums eine 7%ige Lösung der Eiweißkörper verwendet. War die Lösung des

---

[1]) Diese Zeitschr. **86**, 343, 1918.

[2]) auch bezüglich der Bezeichnungen, der Herstellung der Seren und der Ausführung der Serumproben.

Proteins ausnahmsweise verdünnter, so wurde dementsprechend ein größeres Volumen der Lösung genommen.

Die benutzten Eiweißpräparate waren folgende:

Kaninchenserum.

Linsensubsanz. Einige Linsen aus Kälberaugen wurden gut verrieben und in 1%iger Kochsalzlösung aufgenommen, die so hergestellte Lösung wurde zur Kupplung genommen.

Legumin (Merck). 0,35 g der Substanz wurden mit 2 ccm Wasser und 4 Tropfen n-NOH gut verrieben, wobei fast völlige Lösung eintrat, dann wurden 3 ccm Wasser zugesetzt. Diese Lösung wurde zur Kupplung mit Soda und Diazolösung verwendet. Ein beim Stehen der Lösung des Azoproteins im Eiskasten sich absetzendes Sediment wurde entfernt.

Konglutin (pur. nach Ritthausen. Grübler). Verfahren wie bei Legumin. Zum Schlusse wurde die Lösung des Azoproteins durch Zentrifugieren geklärt.

Gliadin. Darstellung nach Abderhalden, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 2, 321. Von dem Präparat wurden 0,35 g mit 5 ccm Wasser und 2,5 ccm n-NaOH gut angerieben; es resultierte eine sehr trübe, dickliche Flüssigkeit, die direkt zur Kupplung in der gewöhnlichen Weise verwendet wurde. Die Ausfällung wurde beim Metanilsäurepräparat durch Zusatz von Kochsalz befördert. Die erhaltene Lösung wurde zentrifugiert und zur vollständigen Klärung durch Asbest filtriert.

Zein. Je 100 g Maismehl wurden mit 200 ccm 80%igen Alkohols unter häufigem Umschütteln im Brutofen extrahiert, das Filtrat durch allmählichen Wasserzusatz ausgefällt, die ausgefällte Substanz durch längere Digestion im Brutofen wieder in 80%igem Alkohol gelöst, das Filtrat mit Alkohol und Äther ausgefällt. Diese letztere Umfällung wurde eventuell nochmals wiederholt. Die getrocknete Substanz wurde zuerst grob zerkleinert, dann unter Ätherzusatz fein verrieben. 0,35 g des möglichst feinen Pulvers wurden mit der Diazolösung versetzt und Sodalösung zugefügt. Während der halbstündigen Digestion dieser Mischung wurde mit einem Glasstab verrührt und gerieben, so daß ein Teil der Substanz in Lösung ging. Nach Ausfällung des Azoproteins mit Säure und Wiederauflösung desselben wurde durch Asbest klar filtriert.

Histonsulfat aus Thymus. Von Herrn Prof. Kossel überlassenes Präparat.

Globin. Darstellung aus Kaninchenblut im wesentlichen nach Browning und Wilson[1]). Die Globinlösung wurde mit Ammoniak ausgefällt, durch Lauge in wäßrige Lösung gebracht, neutralisiert, wieder ausgefällt und auf einem Hartfilter abfiltriert. Bei der Kupplung wurde zu der Lösung der Substanz zuerst Diazolösung, dann n-Na_2CO_3 zugesetzt; es trat bald Lösung des sich bildenden Niederschlages ein.

---

[1]) Journ. Path. u. Bakt. **14**, 175, 1909.

Beim Metanilsäurepräparat wurde bei der Ausfällung durch Säure Kochsalz zugefügt.

Casein (nach Hammarsten, Merck). Wurde durch entsprechenden Zusatz von n-NaOH in Lösung gebracht.

Gelatine. Gutes Handelspräparat, mehrere Wochen mit Wasser ausgewaschen. 0,35 g wurden in 20 ccm Wasser gelöst. Nach der Kupplung wurde von dem durch Säurezusatz ausgefallenen Niederschlag abgegossen und derselbe durch Zusatz von n-NaOH bis zur Neutralität und leichtes Erwärmen gelöst. Die Lösung hat bei genügender Konzentration noch die Fähigkeit, zu gelatinieren.

Ovomucoid. Eiereiweiß wurde mit Wasser verdünnt und in ziemlich viel, schwach mit Essigsäure angesäuertes, kochendes Wasser eingerührt. Das Filtrat wurde mit Alkohol gefällt und die Fällung noch zweimal in Wasser gelöst, zentrifugiert und mit Alkohol gefällt, wenn nötig, etwas konz. Kochsalzlösung zugefügt. Die Ausfällung der Azoproteine geschah durch Alkohol unter Zusatz von konz. Kochsalzlösung.

Mucin [s. Elliott[1])]. Submaxillardrüsen vom Rind wurden in der Fleischmaschine zerkleinert und mit dem doppelten Volumen Wasser unter Toluolzusatz einen Tag bei Zimmertemperatur extrahiert, die Lösung durch Gaze und dann durch ein Falterfilter filtriert, durch vorsichtigen Zusatz von HCl gefällt, in Wasser durch NaOH gelöst, nochmals gefällt und wieder gelöst.

Hämoglobin. Defibriniertes Hundeblut wurde zentrifugiert, viermal auf der Zentrifuge gewaschen, mit dem doppelten Volumen Wasser unter Toluolzusatz aufgelöst und mit dem der Lösung gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung versetzt. Von der entstandenen Ausscheidung wurde rasch durch Zentrifugieren und Filtrieren getrennt. Im Eisraum schieden sich aus der Lösung bis zum nächsten Tage Krystalle aus, die durch Absaugen gewonnen wurden. Die Krystalle wurden in lauem Wasser gelöst, wieder mit dem gleichen Volumen Ammonsulfatlösung versetzt, durch scharfes Zentrifugieren geklärt und die aus der klaren Lösung beim Stehen in der Kälte sich ausscheidenden Krystalle benutzt. Die Ausscheidung wurde durch Reiben mit einem Glasstabe unterstützt.

Substanz aus Seide. 2 g Seidenfibroin[2]) wurden in 20 ccm rauchender Salzsäure (42 %) aufgelöst, nach ganz kurzer Zeit mit etwas Wasser verdünnt und mit starker NaOH-Lauge schwach alkalisiert, dann mit verdünnter Salzsäure ausgefällt, durch ein Hartfilter filtriert. Der Filterrückstand wurde durch schwache Lauge in Lösung gebracht, dann neutralisiert. Beim Ausfällen des Metanilsäurepräparates mit Säure wurde gesättigte Kochsalzlösung zugefügt.

---

[1]) Journ. of inf. Dis. **15**, 501, 1914.

[2]) E. Fischer und Skita, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 177, 1901.

Cyprinin [s. Kossel und Dakin[1])]. Das mit geringen Abweichungen nach Kossel und Dakin in Form eines feinen Pulvers erhaltene Rohmaterial wurde in Portionen von 5 g mit 25 ccm 1%iger Salzsäure 1/2 Stunde auf der Maschine geschüttelt, filtriert, das Filtrat mit dem 4fachen Volumen 95%igen Alkohols und ebensoviel Äther gefällt. Die ausgefällte Substanz wurde mit trockenem Äther gewaschen, getrocknet, pulverisiert. Das Material wurde in gleicher Weise noch zweimal extrahiert, das letztemal die Lösung zur Extraktion einer neuen Portion verwendet. Das so bereitete salzsaure Salz wurde zur Kupplung unter Zusatz einer kleinen Menge verdünnter Salzsäure in Lösung gebracht, vom Ungelösten abfiltriert (Gewichtsbestimmung). Bei der Auflösung der Azokörper blieb ein Rest ungelöst, von dem abzentrifugiert wurde.

Oxyprotsulfonsäure aus Rinderserum [Maly[2])]. 100 ccm Serum wurden mit 3,7 g Kaliumpermanganat in 5%iger Lösung unter Umschütteln versetzt und drei Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, mehrmals umgeschüttelt. Der Niederschlag wurde mit lauem Wasser mehrmals gewaschen und die Waschwässer samt dem Filtrat durch Versetzen mit verdünnter Salzsäure (schwache Kongoreaktion) ausgefällt, durch Laugenzusatz gelöst und noch einmal umgefällt[3]).

Xanthoprotein aus Rinderserum. In 180 ccm ungefähr 80%iger HNO_3, der etwas Harnstoff zugesetzt war, wurden 30 ccm Serum unter Umrühren eingegossen. Durch Kühlung wurde die Temperatur auf Zimmertemperatur gebracht. Nach 15′ wurde gewöhnliches Wasser mit Eisstückchen allmählich bis zu einem Volumen von 2 Litern zugesetzt, so daß Flockenbildung erfolgte. Nachdem über Nacht im Eiskasten Sedimentierung eingetreten war, wurde abgegossen, der Niederschlag durch Zentrifugieren gewonnen. Herstellung einer wäßrigen Lösung durch Zusatz von NaOH, Neutralisieren.

Pepton Witte.

Plastein aus Pepton-Witte. 250 ccm 20%iger Peptonlösung in Wasser wurden mit 40 ccm n-HCl und 75 ccm Lablösung (Merck) versetzt und unter Toluolzusatz zwei Tage bei 37° digeriert. Der reichliche Niederschlag wurde mit 1%iger Kochsalzlösung gewaschen, durch

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 567, 1903.

[2]) Monatsh. f. Chem. **6**, 117, 1885.

[3]) Ein mit Oxyprotsulfonsäure (l. c. diese Zeitschr. **86**, 345 nach Obermayer und Pick als Oxyproteinsäure bezeichnet) aus Pferdeserum hergestelltes Immunserum wirkte, wie nebenbei bemerkt sei, artspezifisch auf Oxyprotsulfonsäure, daneben auch deutlich auf natives Pferdeserum und daraus hergestelltes Xanthoprotein, ziemlich stark auf gekochtes Pferdeserum ein, auf letzteres mit etwas abgeschwächter Artspezifizität, nämlich auch deutlich auf gekochtes Rinder- und Menschenserum (vgl. Zeitschr. f. Imm. **20**, 217ff.; Wiener klin. Wochenschr. **1906**, Nr. 12, 330, 332).

NaOH in wäßrige Lösung gebracht, dann schwach alkalisch gemacht. Ausbeute 4,5 g Plastein.

Seidenpepton (Hoffmann-La Roche). Nach der Kupplung wurde die möglichst konzentriert gehaltene Lösung bis zu schwacher Kongoreaktion angesäuert, mit Alkohol und Äther gefällt, die Lösung des Niederschlages neutralisiert.

Die Serumproben wurden mit zwei, durch Injektion mit Azoproteinen aus Pferdeserum hergestellten Immunseren — Metanilsäure J. S., p-Arsanilsäure J. S. — ausgeführt, wodurch die Spezifizität der Reaktionen festgestellt werden konnte. Nur bei der stärksten Antigenkonzentration (einmal eine sehr schwache Reaktion bei der Verdünnung 1 : 500) fanden öfters Reaktionen meist geringer Intensität mit dem heterologen Serum statt. In diesen Fällen traten fast immer schwächere Trübungen auch bei Zusatz von normalem Kaninchenserum ein, so daß die Spezifizität nicht tangiert erscheint. Die Fälle, wo Trübungen auch mit normalem Serum zu beobachten waren, sind durch Klammern gekennzeichnet.

Zu jeder Probe kamen 2 Capillartropfen Immunserum. Die Ablesung erfolgte nach einstündigem Stehen bei Zimmertemperatur. Die Antigenverdünnungen (1 : 100, 1 : 500, 1 : 2500) beziehen sich auf Stammlösungen mit einem Gehalt von 0,05 g organischem Trockenrückstand in 1 ccm.

Die Versuche, die nicht mit allen Proteinen zu gleicher Zeit gemacht wurden, sind in einer Tabelle zusammengestellt.

Die Übersicht über die ausgeführten Reaktionen zeigt, wenn man zunächst von den Präparaten aus Gelatine und Pepton absieht, daß der Eiweißanteil keinen wesentlichen Einfluß auf das Reaktionsergebnis hat, obwohl Substanzen aus ganz verschiedenen Gruppen der Eiweißkörper geprüft wurden. Im besonderen erkennt man, was die Abstammung des Eiweißes anbelangt, das reguläre Verhalten der Reaktionen bei Präparaten aus Kaninchenserum, also dem Eiweiß des zur Immunisierung benutzten Tieres[1]) und sieht, daß tierische und pflanzliche Eiweiße sich gleich verhalten. Das in serologischer Beziehung eigenartige Linseneiweiß zeigt hier keine Besonderheiten. Was die Proteine mit ausgeprägten chemischen Verschiedenheiten anbelangt, so ist zu bemerken, daß zusammengesetzte Eiweißstoffe, sogenannte Proteide, wie Casein, Glykoproteide (Mucin, Ovomucoid), Hämoglobin sich im Prinzip nicht anders verhalten als einfache Eiweißkörper. Nur fiel bei Hämoglobin eine im Vergleich zu den anderen

---

[1]) S. Zeitschr. f. Immunitätsf. 26, 293, 1917.

Immunseren	Metanilsäure						p-Arsanilsäure					
Proteine gekuppelt mit	Metanilsäure			p-Arsanilsäure			Metanilsäure			p-Arsanilsäure		
Antigenkonzentration 1:	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500	100	500	2500
Kaninchenserum	++	+++±	+++	—	—	—	—	—	—	++	++++	+++
Linsensubstanz	++	+++	+	—	—	—	±	—	—	+	++++	+++
Legumin	+	++++	++	—	—	—	—	—	—	++	++++	+++
Konglutin . . .	++	+++	++±	—	—	—	—	—	—	+++	++++	+++
Gliadin	++++	+++±	++	—	—	—	(++)	—	—	+++	++++	++++
Zein	+++±	+++	++	—	—	—	(++)	—	—	+++±	++++	+++
Histon	+++±	+++±	+	—	—	—	—	—	—	++++	+++±	+±
Globin	++++	++++	++	(±)	(±)	—	(+++)	—	—	++++	++++	+++
Casein	+	+++±	—	—	—	—	—	—	—	±	++++	++++
Gelatine	—	+	+±	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Ovomucoid . .	—	++	+	—	—	—	—	—	—	—	++++	+
Mucin	++±	+++	++	—	—	—	(+)	—	—	+++	++++	+++
Hämoglobin . .	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	++	+++
Seide	+	++++	++	—	—	—	—	—	—	+	++++	++++
Cyprinin	+++	++	±	—	—	—	(++)	—	—	++	++++	+
Oxyprotsulfonsäure	++	+++	+±	—	—	—	—	—	—	++	++++	++±
Xanthoprotein	+++	+++±	++	—	—	—	(+++)	—	—	+++	++++	+++
Pepton Witte .	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	++
Plastein	+	++	+	—	—	—	—	—	—	—	++±	+++
Seidenpepton .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Körpern geringere Intensität der Reaktion auf. Auch wenn das natürliche Eiweiß vor der Kupplung chemisch verändert wurde, so hatte das bei zwei untersuchten Präparaten, nämlich Oxyprotsulfonsäure und Xanthoprotein, keinen Einfluß auf die Reaktionen.

Die einzelnen einfachen Eiweißstoffe zeigten die gleiche typische Reaktionsweise mit dem Azoproteinserum, unabhängig von ihrer verschiedenartigen Zusammensetzung und besonderen Eigenschaften, wie die alkohollöslichen Proteine, Gliadin und Zein mit hohem Gehalt an Glutaminsäure bei Abwesenheit gewisser anderer Aminosäuren[1]), ferner die basenreichen und basischen Substanzen Histon und Globin. Besonders hervorzuheben ist, daß auch eine sehr ungleiche Beschaffenheit in bezug auf den Gehalt an Tyrosin und Histidin sich nicht durch ein verschiedenes Verhalten zu erkennen gibt. Das lehrt der Vergleich der Präparate aus der tyrosinreichen

[1]) Vgl. die vorhergehende Mitteilung S. 347.

Seide und dem viel Histidin enthaltenden Globin[1]. So ist es nach den angeführten und noch zu besprechenden Ergebnissen nicht unwahrscheinlich, daß keine bestimmte Aminosäure des Eiweißes für das Stattfinden von Präcipitinreaktionen maßgebend oder notwendig ist. In diesem Sinne dürften nämlich auch die Reaktionen mit den Präparaten aus Gelatine zu deuten sein. Mit dieser Substanz konnten bekanntlich Immunreaktionen bisher überhaupt nicht erzielt werden, eine Erscheinung, die man auf die Abwesenheit des Tyrosins und Tryptophans im Molekül der Gelatine bezog[2]. In den oben angeführten Versuchen sind nun Reaktionen mit den aus Gelatine hergestellten Präparaten erhalten worden. Die eingetretenen Fällungen waren freilich im Vergleich zu den übrigen Präparaten nur schwach, und es ließe sich denken, daß sie von Verunreinigungen der Gelatine mit anderen Eiweißkörpern herrühren. Dagegen spricht aber, abgesehen von der eigentümlichen klebrigen Beschaffenheit der Niederschläge, der Umstand, daß die Reaktionen gerade bei starker Verdünnung des Antigens eintraten. Ich möchte deshalb glauben, daß wirklich die gekuppelte Gelatine die Reaktion gibt. Bei der unveränderten Gelatine mag das Fehlen der Immunreaktionen trotzdem auf der Abwesenheit der genannten Aminosäuren beruhen, wodurch die Bildung von Niederschlägen erschwert sein könnte, aber dieser Mangel scheint durch den Eintritt neuer Gruppen ausgleichbar zu sein[3].

Der gleiche Schluß, wie aus den Proben mit Gelatine ist vermutlich auch aus Versuchen mit einem kein Tyrosin, aber Histidin enthaltenden Protamin, nämlich Sturin[4], zu ziehen, das mit diazotierter Arsanilsäure gekuppelt wurde.

0,02 g Sturinsulfat wurden mit 1 ccm n-Sodalösung und 1,2 ccm

---

[1] Die vorliegende Analyse des Globins von Abderhalden betrifft allerdings solches aus Pferdeblut (Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem. 2. Aufl., S. 239).

[2] s. d. vorhergehende Mitteilung S. 346 und Zeitschr. f. Immunitätsf. 26, 152, 1917.

[3] Von dem Fehlen des Immunisierungsvermögens ist dabei abgesehen.

[4] Für die Überlassung des Präparates danke ich Herrn Prof. Kossel bestens.

einer Diazolösung aus 0,015 Atoxyl eine halbe Stunde bei Zimmertemperatur in einem Zentrifugiergläschen digeriert. Die intensiv rot gefärbte Flüssigkeit (samt dem sich sofort bildenden Niederschlag) wurde durch Ansäuern und Eintragen von Kochsalz ausgefällt, der Niederschlag nochmals in gleicher Weise mit Diazolösung behandelt und der Vorgang ein drittes Mal wiederholt. Es ging so schließlich unter häufigem Verreiben mit einem Glasstab alles in Lösung, und es resultierte eine klare braune Lösung, aus der der Niederschlag, wie schon nach der zweiten Behandlung, leicht durch Ansäuern auszufällen war. Mit der neutralisierten Lösung dieses Niederschlags wurden die Proben ausgeführt.

Dieses Präparat gab mit dem p-Arsanilsäure-Immunserum in starker Verdünnung (1 : 2500, 1 : 12500) sehr deutliche spezifische Fällungen und in der Verdünnung 1 : 8000 bis 16000 auch vollständige Komplementbindung.

Die Sachlage ist nur insofern nicht ganz klar, als ein in analoger Weise mit Metanilsäure hergestelltes Präparat mit homologem Serum keine typische Reaktion gab. Nur mit solchen Seren, die sich im Eiskasten etwas trübten, trat bei längerem Stehen in der Kälte eine, wie der Vergleich mit anderen Antigenen zeigte, spezifische flockige Fällung ein. Merkwürdigerweise gab das Arsanilsäureserum auch eine Präcipitation mit einem Präparat, das in der beschriebenen Weise aus Clupein dargestellt war. Da dieses Präparat nach den analytischen Angaben weder Tyrosin noch Histidin enthält, bedürfen die Ergebnisse mit Protaminen noch weiterer Aufklärung. Bezüglich des Cyprinins, in dem wohl Tyrosin, aber kein Histidin enthalten ist, ist zu bemerken, daß die Reinheit des verwendeten Präparates nicht genügend sichergestellt werden konnte.

Im übrigen sind die mitgeteilten Ergebnisse offenbar noch als weitere Bestätigung der schon früher[1]) gewonnenen Ergebnisse zu verwerten, daß die Spezifizität der Serumreaktionen der Azoproteine in bezug auf die Azokomponente nur von der chemischen Beschaffenheit dieser selbst und nicht von der Art ihrer Einfügung in das Eiweißmolekül abhängt.

Anders als fast alle bisher besprochenen Substanzen verhielten sich Azokörper, die aus Spaltungsprodukten von Eiweiß hergestellt waren.

In Anbetracht der widersprechenden Angaben[2]) über die Immuni-

---

[1]) l. c. S. 378.

[2]) Myers, Centralbl. f. Bakt. **28**, 237, 1900. — Michaelis und Oppenheimer, Arch. f. Anat. u. Physiol. **1902**, 336, Suppl. — Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. **1902**, Nr. 11; **1904**, 1240. — Müller, Centralbl. f. Bakt. **32**, 521, 1902. — Tchistovitch, Annales

sierung mit Verdauungsprodukten und mit Witte-Pepton im besonderen möchte ich hier als Einschaltung anführen, daß ich (mit Lampl) durch Injektion von Witte-Pepton sicher positive Ergebnisse erzielte. Es wurden Kaninchen sehr große Mengen (vgl. Schütze) des Präparates injiziert, z. B. erhielt ein Tier mit brauchbarem Serum ungefähr 15 g Pepton, zuerst in 5%igen, dann in 10%igen Lösungen in 8 Injektionen, die in Abständen von ungefähr einer Woche aufeinander folgten. Andere Tiere erhielten noch größere Mengen und zahlreichere Injektionen in der Einzeldosis bis zu 3,5 g.

Ein Serum ergab z. B. folgende Präcipitinreaktionen: 5 Capillartropfen Serum, 0,2 ccm Peptonlösung. Ablesung nach 2^h 37°, Nachts Eisraum.

Konzentration der Peptonlösung	2 %	1%	½%
Peptonserum	+++	++	+
Norm. Kaninchenserum	—	—	—

In ähnlicher Weise wirkte auf die Peptonlösung ein durch Injektion von Plastein aus Witte-Pepton bereitetes Immunserum[1]), das auch mit Plasteinlösung, aber ebenso wie die Peptonimmunseren nicht mit gekochtem Rinderserum reagierte (vgl. v. Knaffl-Lenz und Pick). Bei der Prüfung der Wirkung des Peptonserums auf verschiedene, aus Witte-Pepton hergestellte Fraktionen ergab sich folgendes Resultat: 2%ige Lösungen. Versuchsanordnung wie oben.

Protalbumose	Heteroalbumose	Deuteroalbumose	B. Deuteroalbumose
—	++	+++	±

Versuche mit variierter Konzentration wären noch nachzutragen. Es wird wohl auch noch von Interesse sein, Immunisierungen mit den Peptonfraktionen vorzunehmen.

Auf Seidenpeptonlösungen (2%) wirkte das Immunserum nicht ein.

Die Azokörper aus Witte-Pepton reagierten mit den Azoimmunseren, wie die Tabelle zeigt, aber mit der Abweichung, daß schwächere Präcipitationen eintraten und daß die Fällung

---

de l'Inst. Pasteur **13**, 1406. — Pick, Biochem. d. Antigene S. 29. — Schütze, Festschr. f. Leyden **2**, 309, 1902. — Sacconaghi, Zeitschr. f. klin. Med. **51**, 1904. — Fleischmann, Zeitschr. f. klin. Med. **59**, 514, 1906. — Wassermann und Citron, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. **4**, 273, 1907. — Wells, Journ. of inf. Dis. **5**, 449, 1908; **6**, 506, 1909. — Hailer, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt **47**, 1914. — Lampe u. L., Deutsches Arch. f. klin. Med. **119**, 113, 1916.

[1]) Gay und Robertson, Journ. of biol. Chem. **12**, 233, 1912. — Hermann und Chain, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 289, 1912. — v. Knaffl-Lenz und Pick, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **71**, 407, 1913.

bei einer niedrigeren Konzentration des Antigens stattfand als in der Regel. Aus Witte-Pepton dargestelltes, gekuppeltes Plastein gab stärkere Fällungen als die Peptonpräparate, etwas schwächere als die meisten übrigen Eiweißpräparate. Es liegt sehr nahe, anzunehmen, daß das abweichende Verhalten des Peptons durch die geringere Molekulargröße der darin enthaltenen Substanzen bedingt ist. Dem entspricht es, daß die Azokörper aus Seidenpepton, einem wahrscheinlich durch Säurespaltung hergestellten, noch weiter abgebauten Präparat überhaupt keine Fällungen gaben[1]). Ebenso verhielten sich, wie zu erwarten war, die Kupplungsprodukte von Tyrosin mit diazotierter Metanilsäure und p-Arsanilsäure[2]). Diese Ergebnisse decken sich mit der bisher gemachten Erfahrung, daß die Fällungen durch Immunserum nur mit solchen Substanzen stattfinden, die eine beträchtliche Molekulargröße und dementsprechend ausgesprochen kolloide Beschaffenheit besitzen. In dem vorliegenden Fall kommt noch ein neues Moment hinzu, denn nach den hier beschriebenen Beobachtungen gilt diese Regel, trotzdem die mit negativem Ergebnis geprüften Substanzen jene Gruppen enthalten, die bei den anderen typisch reagierenden Körpern die Spezifizität bedingen.

Man wird so zu der Frage geführt, ob die hochmolekulare, kolloide Beschaffenheit für die Reaktion zwischen Antikörper und Antigen überhaupt oder nur für die Bildung von Niederschlägen eine notwendige Bedingung darstellt. Tatsächlich trifft, wie die folgenden Beobachtungen zeigen, die zweite Eventualität zu.

Der Nachweis hiervon gelang durch Anwendung der von mir gemeinschaftlich mit Halban aufgefundenen spezifischen Hemmungsreaktion[3]). Sie besteht darin, daß die von einem

---

[1]) Es wurden noch stärkere als die in der Tabelle verzeichneten Verdünnungen geprüft.

[2]) Pauly, Zeitschr. f. physiol. Chem. **94**, 284, 1915.

[3]) Münch. med. Wochenschr. **1902**, Nr. 12; vgl. Sitz. d. Ges. d. Ärzte in Wien vom 31. XII. 1901 (vorläufige Mitteilung). Gleiche Ergebnisse wurden später von einer Reihe anderer Autoren mitgeteilt. — Eisenberg, Extr. d. Bull. de l'Acad. d. Sc. de Cracovie Mai **1902**, 289; Centralbl. f. Bakt. **31**, Nr. 15, 1902. — Rostoski, Verh. d. phys.-med. Ges. Würzburg **35**, 1902. — Michaelis, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**, 72. — P. Th. Müller, Centralbl. f. Bakt. **34**, 48, 1903. — Moll,

Präcipitinserum bewirkte Fällung gehemmt wird, wenn man einen Überschuß des homologen Antigens zusetzt, während andere Eiweißstoffe in viel geringerem Grade oder gar nicht hemmend wirken. Diese Reaktion wurde bisher nur wenig verwendet, da sie nicht mehr leistete als die Präcipitinreaktion selbst; sie diente nur gelegentlich dazu, spezifische Präcipitate ohne Änderung der neutralen Reaktion in Lösungen zu bringen[1]). Die zu beschreibenden Proben zeigen aber, daß man mit dieser einfachen Methode spezifische Reaktionen auch dann nachweisen kann, wenn die zu prüfende Substanz mit dem präcipitierenden Immunserum gar keine Fällung gibt.

Zum Nachweis der Hemmung kam in alle Proben 0,2 ccm einer $^1/_{500}$ Verdünnung der Azoproteine aus Hühnerserum (Metanilsäure A. oder Arsanilsäure A.), dann 0,1 ccm der auf hemmende Wirkung zu prüfenden Substanzen (mit diazotierter Metanilsäure oder p-Arsanilsäure gekuppelte Gelatine, Witte-Pepton, Seidenpepton), bzw. zur Kontrolle die gleiche Menge 1%iger Kochsalzlösung, endlich zu jeder Probe 2 Capillartropfen des dem Azoprotein aus Serum entsprechenden Immunserums. Ablesung nach 1stündigem Stehen bei Zimmertemperatur.

Antigene aus Hühnerserum und korrespondierende Immunseren	Metanilsäure		Arsanilsäure	
Kontrolle	+++		++++	
Zugesetzte Substanzen	gekuppelt mit		gekuppelt mit	
	Metanilsäure	Arsanilsäure	Metanilsäure	Arsanilsäure
Gelatine 1 : 100	++	+++	++++	+±
Pepton-Witte 1 : 100 . .	+	+++	++++	±
Pepton-Witte 1 : 25 . .	—	+++	++++	—
Seidenpepton 1 : 100 . .	—	+++	++++	+

Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 578. — Nachtergael, La Cellule 22, 135, 1904. — Dehne und Hamburger, Wien. klin. Wochenschr. 1904, Nr. 29. — Torikata, Bern, Drechsel 1917. — A. Michaelis, Dehne und Hamburger fanden überdies, daß auch der schon gebildete Niederschlag durch überschüssiges Antigen in Lösung gebracht werden kann.

[1]) Dehne und Hamburger. Die von Dehne (Münch. med. Wochenschr. 1907, Nr. 8) vorgeschlagene Verwendung zur forensischen Blutuntersuchung wurde, soviel ich weiß, praktisch nicht verwendet. Ihre Brauchbarkeit ist deshalb zweifelhaft, weil Hemmungen schon nach den Ergebnissen von mir und Halban in geringem Maße auch bei heterologen Seren eintreten können.

Aus den Versuchen geht hervor, daß nicht nur die Präparate aus Gelatine und Witte-Pepton, sondern auch die aus Seidenpepton die Präcipitation hemmen, so wie ein Überschuß eines gewöhnlichen Antigens.

Die Hemmungsreaktion wird allgemein als Ausdruck der Bildung einer löslichen Verbindung zwischen Antigen und Antikörper betrachtet, und diese Auffassung erscheint durch die vorliegenden Versuche, z. B. die von Müller und Nachtergael, hinreichend gestützt, während für die noch mögliche Annahme, daß die Hemmung durch eine Beeinflussung des Zustandes des Antigens, im vorliegenden Fall also durch eine Verbindung zwischen den beiden Azosubstanzen, bedingt ist, gar kein Anhaltspunkt besteht. Demnach ist der Schluß gerechtfertigt, daß die genannten Substanzen — Azokörper aus Gelatine, Witte-Pepton, Seidenpepton — wirklich mit den Immunseren in Reaktion treten. Gelatine und Witte-Pepton zeigen die Hemmungserscheinung übrigens auch sehr deutlich, wenn sie als solche mit den präcipitierenden Seren zusammengebracht werden, da bei diesen Körpern eine Niederschlagsbildung nur bei starker Verdünnung eintritt (s. Tabelle S. 111).

Es ist noch hinzuzufügen, daß sich nach vorläufigen Versuchen gleiche Hemmungsreaktionen mit einfachen Substanzen, z. B. mit Azofarbstoffen, die aus Tyrosin oder m-Oxybenzoesäure mit diazotierter Metanilsäure oder p-Arsanilsäure hergestellt sind, erzielen lassen und daß selbst die nicht diazotierten Substanzen Metanilsäure und p-Arsanilsäure wider Erwarten mit den beiden Immunseren, wenn auch mit beschränkter Intensität und Spezifizität, noch reagieren. Diese Reaktionen sollen in einer folgenden Mitteilung ausführlich beschrieben werden.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß nach den vorliegenden Ergebnissen die Bedeutung der Proteine für die gebräuchlichen Serumreaktionen, wenn man von der Fähigkeit zur Immunisierung absieht, nicht so sehr auf ihrer besonderen chemischen Struktur als vielmehr auf der Molekulargröße und den davon abhängigen Eigenschaften zu beruhen scheint. Demnach dürfte es möglich sein, die Proteine in dieser Beziehung durch andere kolloide Substanzen zu ersetzen, die eine mit dem Immunserum reagierende Gruppe enthalten.

Die Frage nach der Bedeutung der Proteinkomponente der Azoproteine für deren immunisierende Wirkung bedarf noch der Untersuchung, die vermutlich am besten durch Anaphylaxieversuche erfolgen kann. Schon nach den hier beschriebenen Beobachtungen gibt es aber wahrscheinlich Substanzen, die mit Antikörpern reagieren, ohne die Fähigkeit zu haben, solche zu erzeugen [vgl. K. Meyer[1])]. Vielleicht ist die Schwierigkeit der Antikörperbildung gegen Tuberkulin ein in diese Kategorie einzureihendes Beispiel.

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsf. **11**, 211, 1911.

Neue Beobachtungen über das Vorkommen von Hämatin im menschlichen Blutserum III.

Weitere Ergebnisse aus der toxikologischen Praxis.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(*Eingegangen am 9. Oktober 1918.*)

Anknüpfend an die bisher vom Verf. gesammelten Einzelbeobachtungen über toxischen Blutzerfall mit Hämatinämie seien in vorliegender Mitteilung weitere Ergebnisse niedergelegt, die an Sonderbeispielen zeigen, welche Ausdehnung das durch Schumms Untersuchungen eingeleitete Spezialgebiet zu nehmen imstande ist. Die von Feigl und von Schumm (mit ihren Mitarbeitern) anläßlich ihrer Befunde an typischen Fällen schwerer Blutvergiftungen ausgesprochenen Anschauung, daß das Hämatin bis zum gewissen Grade das Methämoglobin in der Theorie der „Blutgifte“ ablösen würde, bzw. daß es, einstweilen mindestens gleichberechtigt, als empfindlicherer Indicator für einschlägige Vorgänge an dessen Seite treten dürfe, gewinnt immer mehr an Boden. Auf die Zusammenstellung von Einzelbeobachtungen der Forscher des Allg. Krankenhauses Hamburg-Eppendorf, die Schumm (1916) in seiner Arbeit vollzogen hat, folgte diejenige von Feigl (1918), die bereits weitere Kreise zog, als man ursprünglich anzunehmen berechtigt und daher geneigt war.

Es darf daran erinnert werden, daß die Auffindung der toxischen Hämatinämie Schumm (1913) gelang, der einen schweren Fall von Vergiftung mit Chromat unter den Händen hatte. Er ist bisher einer

derjenigen, die die beste Durcharbeitung auch der methodischen Fragen enthalten, wennschon einstweilen das reproduzierende Experiment fehlt. Weitere anorganische Stoffe (s. jedoch CO-Vergiftungen und Argyrie mit den bezüglichen Urteilen) sind auf jener Seite nicht in den Kreis der Betrachtungen getreten.

Ein wichtiges Stück in dem Gebiete der Blutgifte, ein Schulbeispiel der Methämoglobinämie, unterzog Feigl den Gesichtspunkten der Hämatinämie. Der schwere Fall menschlicher Intoxikation mit Chlorat wurde mit breiten tierexperimentellen Erhebungen über die Verknüpfung der Erscheinungen ausgestattet. Bromate, „nitrose Gase", anorganische Bestandteile der Kampfgasgemische folgten dann.

Wir bleiben zunächst innerhalb des Kreises der Blutgifte, die der anorganischen Chemie angehören. Inzwischen haben wir Gelegenheit gehabt, durch liebenswürdiges Vertrauen von auswärtigen Seiten folgende Anlässe zu untersuchen, die die Vorfälle und Beobachtungen der eigenen Anstalt wesentlich erweiterten.

Feigl schrieb (1918) kurz (nach der gebotenen Sachlage der Herkunft und Natur des Falles), daß eine Vergiftung mit nitrosen Gasgemischen (die an Ort und Stelle nicht analysiert, aber durch Erhebungen sichergestellt waren), bei eingeleiteter Heilung am 4. Tage Ht. 2 + und verzögerten Diazoausfall für Bilirubin gezeigt habe.

Wir berichten über neue Fälle derselben Art, die bei uns aufgenommen wurden, in Behandlung waren und durch Vernehmung geklärt werden konnten.

Nr. 1. Ma. 50jähriger Mann, früher Maler, jetzt Arbeiter, hat 1888 (leichten) Typhus überstanden, soll fernerhin nicht krank gewesen sein. War von Juli 1917 bis März 1918 in einer Munitionsfabrik mit Pikrinsäure (nicht Herstellung, sondern Verarbeitung fertiger Produkte) beschäftigt. Staubentwicklung (unbedeutender Art) sowie äußere Anfärbung (von Haut und Haaren) zugegeben (Symptom Hautjucken). Nach gewisser Zwischenzeit arbeitete M. in einer anderen Fabrik, wo ihm nach wenigen Tagen im Betriebe eine erhebliche Intoxikation passierte. Diese muß nach Aussagen („Benzol, Salpetersäure; Mischungen; erhebliche Dampfentwicklung, die nicht genügend durch Absaugen entfernbar war") und Erhebungen als echte Nitrosewirkung aufgefaßt werden. Von Symptomen ließen sich folgende erhärten. Allgemeine Abgeschlagenheit, schwere Beine, Kopfschmerz, Gliederschmerzen, Schwächezustände, Ohrensausen, Schwindel, herabgesetzter Tastsinn usw., Appetitlosigkeit. Stuhl o. B. Urin braun bis dunkelbraun. Gesichtsfärbungen z. T. vorübergehend gelb bis bräunlichgrau, dann auch zeitweilig cyanotisch. Am 27. IV. Arbeitseinstellung, 28. IV. schlechtes Befinden, 29. IV. Auf-

nahme (und erste Untersuchung). Bei der Untersuchung blaßfahle Hautfarbe, leicht gelblich; Skleren subikterisch, cyanotische Lippen, gelbe Haut an Händen usw., Zahnfleisch verfärbt. Herz, Lunge o. B. Nervensystem fast o. B. Elender Gesamteindruck, schleppender Gang, apathisch. Hämatologie: 50% Hb., 3,0 Mill. Erythrocyten, 7400 Leukocyten (69% polynucleäre, 29% kl. Lymphocyten, 1/2 bis 1% der restlichen Glieder), Anicocytose.

Chemische Untersuchungen. 1. Serumfarbe leicht trübe, bräunlichgelb (etwa eine Nuance der sogen. Hämatinfärbung). Ht. sehr stark +, berechnet und geschätzt ca. 1,5% freies Ht. im Blute. Methämoglobin, COHb., O_2Hb. fehlen völlig. Im Vollblut Ht. nicht sicher nachweisbar. Ht. im Serum ist der höchste von Verf. (und Mitarbeitern) seit 1913 gesehene Betrag. Nitrobenzolstreifen (Filehne) ø. Im Spektrum steht „Rechtsverdunkelung" (Feigl-Querner), bei Serum über Blau + Grün, leicht im Blau durchscheinend (Urobilin?). Bilirubin, Oxydation, Feigl-Querner) +, Diazo (Hymans, v. d. Bergh-Müller, Feigl-Querner) sofort ø, in 10 Minuten schwach +, in 20 Minuten stark +). Bilirubinbefunde eindeutig für „anhepatischen" Farbstoff (und zwar solchen hohen Grades). Im Blute wurde auf Pikrinsäure und Derivate, auf Nitrobenzol und Derivate usw. vergeblich geprüft. Urobilin (Feigl-Querner) +. Alkalescenz gesenkt.

2. Leichte Hydrämie. BZ. 0,18% (wahrer Zucker 0,12%, Restreduktion 0,06%), Ges.-R.-N 48,0 mg (Trichloressigsäure), darin $\overset{+}{\text{Ur}}$N 20,0 mg, Ges.-Amino-N (Bang) 28,0 mg, $\overset{-}{\text{Ur}}$ 3,0 mg, Kreatinin 2,5 mg, Kreatin 18,0 mg (!). Ber. Amino-N (Feigl und Luce) rd. 20,0 mg. Gefundener (direkt bestimmt nach v. Slyke-Rosenberg-Bock) 18,0 mg. Albumosen und Oxyproteinkörper o. B.

3. Lipämiegebiet. Bloor. Gesamtextrakt 2,2 g. Cholesterin 350,0 mg mit 66% Ester, Lecithin 310,0 mg (Näheres siehe später). Befunde stark pathologisch.

4. Urologie. Urobilinogen leicht +. Urobilin ++. Ht. (durch Reduktion) +. O_2Hb., MetHb. usw. ø. Ht. porphyrin leicht +. Bilirubin nicht nachweisbar (auch durch Isolierung). Indican ø. Diazo ø. N-Verteilung ein wenig alteriert (s. päter). Relativ hoher Fettgehalt (s. später). Pikrinsäure, Nitroaryle, Derivate usw. wurden genau und häufig gesucht, nicht gefunden. Acetonkörper leicht erhöht, wenig Eiweiß usw. Leichte Glykos-

urie, keine pathologischen Befunde über Glucuronsäure. Cylinder reichlich, Leukocyten, kein Blut.

Die Befunde halten sich in ca. 10 Tagen auf der gleichen Höhe, obschon durch klinische Maßnahmen (As-Therapie) objektive und subjektive Besserung eintritt. Nach 12 Tagen 53 % Hb.; Resistenz noch herabgesetzt; R.-N-Gebiet noch erheblich gestört; Ges.-R.-N 50,0 mg mit Aufrücken des $\overset{+}{Ur}$; BZ. 0,14 %; Lipämiegebiet beträchtlich gebessert (s. später). Noch verzögerter Diazo im Serum: Bilirubin +; Ht. nur Spuren. Urin ist durchaus o. B. Nach 17 Tagen alles o. B. 73 % Hb. Nach 25 Tagen 80 % Hb., 1,7 kg Gewichtszunahme; keine pathologischen Befunde in Blut und Serum. Geheilt.

Den beschriebenen typischen Fall sehen wir als wichtiges Glied in der Erforschung der toxischen Hämatinämie an, indem er gestattet, einwandfrei die nitrosen Gase auch bei starker Einwirkung als Ht.-Bildner anzusprechen. Die Einschränkung in der Bewertung liegt nach unserer Auffassung darin, daß die Untersuchung zwar noch in das subakute Stadium fiel, aber die ersten Tage überschlug, so daß bei genauer Prüfung jede Methämoglobinämie als fehlend zu betrachten war. Daher nahmen wir Gelegenheit, in andere, prinzipiell ähnliche Fälle Einblick zu nehmen, deren Befunde summarisch folgendermaßen wiederzugeben sein dürften.

Nr. II. X. Bisher gesunde Frau, 40 Jahre, ähnlicher Verlauf (R.-N-Gebiet, Hämatinämie, Lipämie usw.). Ziemlich akuter Zustand. MtHb. mäßig im Serum, im Vollblut leicht, 3 Tage später nur Ht. in starken Mengen; Ht. bleibt bis zum 15. Tage. Bilirubin verzögerter Diazo, hält sich länger. Urin anfangs viel Ht., wenig O_2Hb.

Nr. III. Y. Gesunder Mann, 60 Jahre, in allen Teilen ähnlich. 6. Tag nur Ht., reichlich, sonst wie oben, protrahierter Verlauf.

Nr. IV. Z. Gesunde Frau, 48 Jahre. Akut, sehr viel MtHb. im Serum, dann (3. Tag) Ht. usw. wie oben.

Nr. V. +. Mann, wahrscheinlich gesund, nicht strenge Nitritvergiftung, MtHb., dann Ht.

Nach den beschriebenen Ergebnissen, die an verschiedenen Fällen gewonnen wurden und deren einer um der

Anschaulichkeit willen mit vollständigen Befunden gegeben werden konnte, haben wir den Schluß zu ziehen, daß bei echten Vergiftungen mit nitrosen Gasen (NO_2, N_2O_3), auch wenn allenfalls sekundäre Begleitstoffe untergeordneten Grades in Rede stehen, Hämatinämie ein wichtiges Glied im Ablaufe der Erscheinungen des toxischen Blutzerfalls ist, deren Nachweisbarkeit weit über die anfänglich gleichzeitige Methämoglobinämie hinausreicht. Dieser ist überdies in geeigneten Kombinationen empfindlicher als Indicator. Bilirubinämie („anhepatisches B.") durch verzögerten Diazoausfall ist eine (spätere) Begleitung und Folgeerscheinung. Die übrigen Befunde (Lipämiegebiet, R.-N-gebiet usw.) weisen u. U. auf Leberschäden hin und müssen für sich abgehandelt werden. Die Rückbildung verlief durchschnittlich in 3 Wochen bis zur Heilung.

Aus der jüngeren Literatur dürfen wir eine Mitteilung von Zadek (1916) erwähnen, die bei einer Massenvergiftung durch Einatmen nitroser Gase (salpetrige Dämpfe) schwere Methämoglobinämie zeigte. Hämatin war bisher nicht gefunden. Fernere Aufgaben liegen in der Auswertung der gegenseitigen Einflüsse von Komplexwirkungen, der Einleitung oder Hemmung der Blutintoxikation durch fernere Stoffe in den Gemischen. Die Praxis der Arbeiterhygiene hat sich, wie besonders auch jüngste amerikanische Untersuchungen und Vorschläge erweisen (offenbar sind die technischen Vorbedingungen in den Vereinigten Staaten weniger günstig beschaffen, vielleicht durch die kriegszeitlichen Neugründungen) viel mit dieser Frage beschäftigt. Darauf kommen wir noch zurück.

Fernere Untersuchungen über Kampfgase führten, auch in späteren Fällen, zu den Ergebnissen, daß Hämatinämien, daß auch oft noch sehr lange nach den Vergiftungen anhepatische Bilirubinämien pathologischen Ausmaßes zur Beobachtung gelangen. Wenn es nicht möglich war, „frische" Fälle im Binnenlande selbst zu prüfen, und wenn ferner z. Z. analysierbare Angaben über Natur, Mischungsverhältnisse, Intensität der Einwirkungen von Kampfgasen bei den Schwierigkeiten der Aufklärung und den bestenfalls lückenhaften Kenntnissen und Aussagen (in einzelnen Fällen) nicht zu beschaffen sind, so genügt doch die in einem Teile der von uns behandelten Fälle gesehene Hämatinämie mit (konsekutiver) Bilirubinämie anhepatischen Charakters (im Beihalt übriger Befunde) zur Charakterisierung der Schwere gewisser Vorkomm-

nisse und ihres Wesens. Unsere Fälle (auch die von anderen Stellen zur gutachtlichen Äußerung überreichten wie die freundl. überlassenen) belaufen sich auf rd. 30, von denen 8 Hämatinämien zwischen Ht. + und Ht. 4 + (10 bis 28 Tage) nach der Vergiftung führten. Anhepatisches Bilirubin war in pathologischem Grade 8 mal vorhanden und reichte noch in den 4. Monat hinein.

Eines besonderen Falles möchten wir in Kürze gedenken.

Ein junger Arzt aus gesunder Familie, selbst gesund, saß im Unterstande, als ein Minentreffer unter Entwicklung erstickender (s. T. als nitrose Gase erkennbarer) Dämpfe das Balkenwerk der einfachen Höhlenwohnung entzündete. Nach fast 8stündiger Bewußtlosigkeit wurde er ärztlich durchgreifend behandelt. Im etwa 5. Monat nach dem Unfall war Ht. fraglich bis leicht + (dreimalige Entnahme) und anhepatisches Bilirubin durch späte Diazoprobe + bis ++. Es bestand zwischendurch Ikterus. Von ärztlicher Seite wird unter Betonung des sicheren Schadens der Vergiftung angenommen, daß sich eventuell aus ihr ein latenter (geringradiger) hämolytischer Ikterus entwickelt haben könnte, da die Wirkung der Gase in ihrer Art und Stärke zu entsprechenden Früherscheinungen geführt haben muß.

Besonderes Interesse beansprucht die Bewertung unserer eingehend gesehenen Blutbefunde bei Nitritintoxikation (spez. sei der Hinweis auf den Fall Nr. I, M., gestattet) aus folgendem Grunde, weil sie eine Verknüpfung mit einer von Fr. Pick (1918) gemachten gründlichen Beobachtung zulassen. Es wird toxische Neuritis gefunden sowie von Hautverfärbungen gesprochen, die die Möglichkeit einer Verknüpfung mit Hämatinämie zulassen sowie in einem Falle das charakteristische Bild der (autoptisch bestätigten) Leberatrophie festgestellt. Sie wird ursächlich mit den Noxen verkettet. Macht man nun auch alle angezeigten Einschränkungen, so ist doch die Tatsache der von uns gesehenen Lipämie ein Fingerzeig für die Leberbeteiligung, dem wir Aufmerksamkeit schenken werden.

Auf gedrängte Wiedergabe von einzelnen ärztlichen Beobachtungen über Gasschäden sei hier hingewiesen. Chemische Blutuntersuchungen sind selten.

Die in jüngster Zeit mehrfach erörterten Erscheinungen durch „Röntgengase“ sind bisher nicht befriedigend durchforscht. Ohne näheren Berichten vorzugreifen, sei hier der vorläufige Hinweis gestattet, daß wir durch freundl. Zusendung fremden Materials die Gelegenheit fanden, in einem gesicherten

Falle Hämatinämie, Bilirubinämie, selbst Lipämie in nicht unbeträchtlichen Graden zu finden. Vorerst ist wohl die Verknüpfung mit niederen Oxyden des Stickstoffs noch immer ein möglicher Weg der Erklärung. Strahlenwirkungen sind mindestens „beschleunigende“ und „hervorlockende“ Agenzien, die auch sonst in den chemischen Bestand des Blutes (Lecithinämie) eingreifen.

Je zwei Zink-, Kupfer-, Bleivergiftungen (akut, Sulfate bzw. Carbonat) zeigten keine Hämatinämie. Eine chronische Bleiintoxikation war gleichfalls frei von Hämatin (mehrmalige Prüfung); sie zeigten „Stauungsbilirubin“ und leichte lipämische Umstimmungen.

Von besonderem Interesse wurde für uns ein Fall von Arsenwasserstoffvergiftung, der sich in der bekannten Weise ereignete (unreine Schwefelsäure und lösliche Metallfläche). Solche sind in Hamburg mehrfach in den Sielen von Industrieanlagen mit sauren Abwässern beobachtet worden. Das Material wurde dem Verf. überwiesen. Es stammte von einem sonst als gesund erwiesenen Arbeiter, der zwei Tage nach dem Unfall Ht. 2 + und mäßig O_2Ht., 5 Tage nachher Ht. + im Serum zeigte, das außerdem später Diazoprobe gab.

Die einschlägige Literatur hat durch Heffter (1918), in dessen Institut (besonders von Joachimoglu) umfangreich über Arsenwirkungen gearbeitet worden ist, eine große Bereicherung erfahren. Dort wird das Fehlen jeder quantitativen Anhalte (bis auf einen Fall mit rd. 175 ccm Gas) betont. Heffter wie auch Joachimoglu arbeiteten über die Hämolyse in vitro, die beim Menschen um einen Gehalt von 0,1 g bis 0,15 g AsH_3 verursacht werde. Das würde einer Heraufsetzung der sonst als wirksam erkannten Grenze gleichzusetzen sein. Auf ganz neue Angaben von Spaeth (1918), daß der Arsenwasserstoff als solcher in den Organen unauffindbar sei, ist hinzuweisen; die Detailanalysen belegen die Arsenverteilung.

Bei manchen Vorkommnissen von Hämatinämie wird man sich die Meinung bilden dürfen, daß nicht unmittelbarer Blutzerfall (wie z. B. bei Chlorat u. a.) eintritt, sondern daß umständlicher verlaufende, gekoppelte Reaktionen vielleicht zu Verhältnissen führen, die diese Bildung verursachen, einleiten oder die natürlichen, normalen Konstanten katalytisch anwachsen lassen.

Anhangsweise darf auf eine unter Leitung Koberts, dem wir viele Verdienste um die Vorstellungen von der Giftigkeit

der Chlorate nachrühmen müssen, von Caesar angestellte Untersuchung hingewiesen werden, die das berüchtigte Mallebrein zum Gegenstande hat. Es reagiert vor dem Kaliumchlorat durch seine sonstige chemische Zusammensetzung, die wir ebenso wie die Mitarbeiter Koberts als durch freie Säuren charakterisiert ermitteln konnten, und muß als recht bedenklich auch gegenüber dem klassischen Stammpräparat der Chloratmedikation bezeichnet werden.

Literatur.

Joh. Feigl, Neue Beob. zur Kasuistik des Vork. von Ht. I (Toxikologie). Diese Zeitschr. **85**, 171, 1918.

Joh. Feigl und R. Deußing, desgl. II (klinisch-patholog. Hämatinämie). Diese Zeitschr. **85**, 212, 1918. — Das. ältere Literatur (O. Schumm und Mitarbeiter; Feigl; Entwicklung, Apparatur, Standpunkt). Über Lipämie, R.-N-Gebiet u. a. siehe später sowie die Mitt. von Feigl, Über Lipämie I bis V, diese Zeitschr. **1918**. Ikterus, Bilirubinämie, Bilirubinurie sowie die Nachweisformen durch Diazoreaktion, J. Feigl und E. Querner, Arch. f. klin. Med. **1918**.

J. Zadek, Massenvergiftung durch Nitrit usw. Berl. klin. Wochenschr. **10**, 246, 1916. Das. Lit.

Fr. Pick, Erkrankung durch Kampfgase. Wiener klin. Wochenschr. **17**, 488, 1918, ref. Centralbl. f. inn. Med. (Seifert) **28**, 459, 1918. Fernere Lit. ebenda (Zentralbl. f. inn. Med) ref. (Reiche, Seifert), bes. auswärtige Zeitschr. Über chemische Umsetzungen der Blutbestandteile durch Strahlenarten, J. Feigl, siehe später. Besonders die Lecithingruppe und der Restphosphor zeigen Befunde.

A. Heffter, Giftigkeit des AsH_3 für den Menschen. Vierteljahrsschr. f. ger. Med. öff. Sanitätswesen **55**, 69, 1918.

E. Spaeth, Ger. chem. Tätigkeit 1. AsH_3. Chem. Centralbl. **2**, 134, 1918.

E. Caesar, diese Zeitschr. **1918**, sowie (gegenseitige) briefliche Benachrichtigung zwischen Herrn Geh. Rat Kobert und mir.

Rudolf Kobert †.

Am 27. Dezember 1918 verschied zu Rostock in Mecklenburg

Rudolf Kobert

im beinahe vollendeten 64. Lebensjahre.

Die Biochemie verliert durch den Tod dieses hervorragenden Gelehrten einen ihrer ausgezeichnetsten Vertreter, der dieses Wissensgebiet dank der Vielseitigkeit seiner Lebensarbeit wie wenige gefördert hat.

Seine Untersuchungen über den Mineralstoffwechsel und über den Blutfarbstoff, seine grundlegenden Forschungen in der Gruppe der Saponinsubstanzen und der Glucoside, namentlich aber seine klassischen Arbeiten über die Agglutinine und Hämolysine des Pflanzenreiches und über tierische Gifte, seine neueren Forschungen über die Gerbstoffe sowie seine zahlreichen Mitteilungen auf Gebieten der angewandten Chemie sichern ihm einen unvergänglichen Ehrenplatz in der Reihe der Biologen. Daneben verdankt man Kobert viele spezielle Errungenschaften im Bereiche der Pharmakologie, der Bäderlehre, der Toxikologie, der Pharmakognosie und Therapie sowie eine große Zahl überaus gelehrter und anregender Beiträge zur Geschichte der Medizin und der Naturwissenschaften.

Mit Staunen, Bewunderung und Dankbarkeit erfüllt die Vielseitigkeit des großen Forschers und Lehrers seine Fachgenossen und zahlreichen Schüler; sie alle beklagen sein viel zu frühes Ende.

C. N.

Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine.

Von

J. Abelin.

I. Mitteilung.

Wirkung der proteinogenen Amine auf den Stickstoffstoffwechsel schilddrüsenloser Hunde.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 8. Oktober 1918.)

Mit 3 Tabellen und 4 Figuren im Text.

Im Bd. 80 dieser Zeitschrift habe ich über den „Nachweis der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse mit Hilfe eines eiweißfreien und jodarmen Schilddrüsenpräparates" berichtet[1]).

Bereits vor dem Erscheinen meiner Arbeit lagen Anhaltspunkte für die Eiweißfreiheit der wirksamen Schilddrüsensubstanzen vor. Es fehlte aber der Nachweis der typischen Wirkung der Schilddrüse, nämlich ihr charakteristischer Einfluß auf den Stoffwechsel. Dieser liegt nun vor, und es darf als bewiesen gelten, daß neben der Nebenniere und der Hypophyse auch die Schilddrüse wirksame Produkte absondert, die nicht zur Reihe der Eiweißkörper gehören. Zu diesem Schluß gelangte früher auch Abderhalden[2]) auf Grund seiner Versuche über die beschleunigte Metamorphose von Kaulquappen des Frosches. Über erfolgreiche Versuche mit eiweißfreien Schilddrüsenauszügen berichten neuerdings Herzfeld und Klinger[3]). Nach Darreichung von eiweißfreien

[1]) Beiträge zur Physiologie der Drüsen von Leon Asher. XXIX. Mitteilung. J. Abelin, Nachweis der Stoffwechselwirkung usw. Diese Zeitschr. **80**, 259.

[2]) E. Abderhalden, Arch. f. d. ges. Physiol. **162**.

[3]) E. Herzfeld und R. Klinger, Verhandl. der schweizer. Naturforsch.-Ges. in Zürich **1917**; Münch. med. Woch. **1918**.

Schilddrüsenpräparaten sahen sie ein Verschwinden der künstlich erzeugten Schilddrüsendegeneration bei der Ratte.

Mit der Auffindung der Tatsache, daß auch nichteiweißartige Schilddrüsenprodukte die Schilddrüsenwirkung besitzen, sind wir in dieser so verwickelten Frage einen Schritt vorwärts gekommen, das Problem selbst ist aber nicht gelöst. Es erhebt sich sofort die weitere Frage, was für Stoffe sind es, die die Wirksamkeit der eiweißfreien Schilddrüsensubstanzen bewirken. Zur Lösung dieser Aufgabe könnten verschiedene Methoden benutzt werden. Einmal der Weg der Analyse. Man könnte die eiweißfreien wirksamen Schilddrüsenextrakte in ihre Bestandteile zu zerlegen suchen. Diese Methoden haben bisher nicht zum Ziele geführt. Die gewöhnlichen chemischen Verfahren, die bei solchen Arbeiten Anwendung finden (Fällungen mit verschiedenen Reagenzien, Zerlegung dieser Niederschläge und Untersuchung der einzelnen Fraktionen) haben bisher bei der Schilddrüse versagt. Solche Versuche sind vorläufig ohne positives Ergebnis von verschiedenen Autoren unternommen worden. Abgesehen davon ist die Durchführung solcher Versuche in der gegenwärtigen Kriegszeit vollkommen unmöglich Es fehlt nicht nur an großen Mengen von Schilddrüsen frisch geschlachteter Tiere, sondern auch an den notwendigsten Chemikalien. Aus diesen Gründen schien mir ein anderer Weg, der Weg der biochemischen Analyse, wenn ich ihn so nennen darf, dienlicher zu sein. Dieser Weg wurde in der Biochemie bereits mehrfach betreten und manchmal mit schönem Erfolg. Lassen sich die fraglichen tierischen oder pflanzlichen Stoffe nicht genauer ermitteln und hat man einige Anhaltspunkte über ihre evtl. Zugehörigkeit zu dieser oder jener Körperklasse, so wird der Chemiker versuchen, Stoffe von ähnlicher vermutlicher Konstitution aufzubauen. Der Physiologe wird dann die neuen Stoffe im Tierversuch prüfen und wird dann feststellen können, ob sich ihre Wirkung derjenigen der Produkte der lebenden Zelle nähert oder nicht. Lassen sich wirklich solche Analogien in der Beeinflussung von manchen Lebensfunktionen aufdecken, so können diese Tatsachen als wertvoller Wegweiser bei der weiteren chemischen Definierung der unbekannten Substanzen dienen.

Von der ganzen Reihe der physiologisch-chemischen Sub-

stanzen schien mir die Gruppe der proteinogenen Amine am meisten Beachtung zu verdienen. In der Tat haben wir hier Verbindungen vor uns, die sich aus den Eiweißabbauprodukten unmittelbar ableiten und die auch im Zellstoffwechsel eine Rolle spielen. Der biologisch relativ einfache Prozeß, der zu ihrer Bildung führt — die Abspaltung von Kohlensäure aus den Aminosäuren (Decarboxylierung) — dient auch als Erklärung für ihre Verbreitung sowohl im Pflanzen- als auch im Tierreich. Außerdem sind es Verbindungen von hoher Wirksamkeit. Ihre Wirkung erinnert in mancher Hinsicht an die Wirkung von inneren Sekreten. So weist z. B. die Wirkung des Histamins auf Blutdruck und Atmung so viel Ähnlichkeit mit der Hypophysenwirkung auf, daß beide Effekte als prinzipiell ähnlich angesehen werden können [Führer[1]).] Die Hypophysenwirkung auf den Uterus läßt sich ferner mit einem anderen proteinogenen Amin, dem Tyramin, resp. in Kombination desselben mit Histamin, erzielen. Diese beiden Momente — die engsten Beziehungen zu den Eiweißstoffwechselprodukten der Zelle (und um solche handelt es sich höchstwahrscheinlich bei den innersekretorischen Produkten) und die hohe spezifische Wirkung der proteinogenen Amine verleihen dieser Körperklasse die höchste physiologische Aufmerksamkeit.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß zwischen den proteinogenen Aminen und den Zellstoffwechselprodukten noch weitere chemische und physiologische Ähnlichkeiten sich auffinden lassen werden, wenn einmal die Reihe der proteinogenen Amine weiter ausgebaut wird. Es sind bis jetzt nur die einfachsten proteinogenen Amine und ihre Derivate dargestellt und untersucht. Es leiten sich aber zahllose Verbindungen aus diesen Aminen ab, und der allgemeinen Erfahrung nach führt der Eintritt dieser oder jener Atomgruppierung in das Molekül zu einer Veränderung der physiologischen Wirkung.

Die proteinogenen Amine sind von verschiedenen Autoren untersucht worden. Man beschränkte sich aber auf die Prüfung ihres Verhaltens gegenüber Blutdruck, Gefäßcontraction, Herz- oder Atemwirkung oder Beeinflussung von überlebenden glattmuskeligen Organen. Es fehlten aber Versuche über ihre Stoff-

---

[1]) H. Führer, Zeitschr. f. d. ges. exper. Mediz. 1.

wechselwirkung. Auf die Untersuchung der Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine wurde ich außerdem durch eine Beobachtung geführt, die ich Gelegenheit hatte, vor 2 Jahren zu machen. Infolge Mangel an Fleisch war ich gezwungen, bei einem schilddrüsenlosen, sich im Stickstoffgleichgewicht befindlichen Hund einen Teil des Fleischstickstoffs durch Stickstoff aus einem alten Hundekuchen zu ersetzen. Trotzdem das Tier die gleiche Stickstoffmenge wie in den Vortagen erhielt, trat eine beträchtliche Steigerung der Stickstoffausscheidung ein. Diese hielt mehrere Tage an. Auch die Harnmenge vermehrte sich. Ich habe darauf aus dem Hundekuchen, der gepreßte Fleischrückstände und Fett enthielt und ziemlich feucht war, einen wäßrigen Auszug gemacht, diesen von Eiweiß und Fett befreit und einem anderen schilddrüsenlosen, sich im Stickstoffgleichgewicht befindlichen Hund eingegeben. Auch hier stieg die Stickstoff- und Wasserausscheidung an. Eine qualitative Untersuchung des Auszuges ließ die Anwesenheit von Aminen vermuten.

All die angeführten Gründe haben mich dazu bewogen, die proteinogenen Amine systematisch auf ihre Stoffwechselwirkung zu prüfen. An schilddrüsenlosen Hunden ist es mir gelungen nachzuweisen, daß einige proteinogene Amine [Phenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin, Isoamylamin (?)] eine starke Erhöhung des Eiweißstoffwechsels bewirken. Auf Grund von Literaturangaben und auf Grund meiner mehrjährigen Erfahrungen auf diesem Gebiete möchte ich hinweisen, daß die typischen Wirkungen der Schilddrüsenzufuhr

a) in einer Hebung des Eiweißumsatzes resp. in einer gesteigerten Stickstoffausscheidung durch den Harn,

b) in einer Vermehrung der Diurese, hauptsächlich in den ersten Tagen nach Eingabe der Präparate und

c) in einer Abnahme des Körpergewichtes

bestehen. Letztere Wirkung ist nicht immer anzutreffen, sie hängt von der Art der Ernährung und des Körperzustandes ab. All diese Wirkungen zeigen auch die proteinogenen Amine in ganz spezifischer Weise. Es ist vorläufig noch nicht möglich anzugeben, welches von den geprüften proteinogenen Aminen am meisten wirksam ist. Dies soll Gegen-

stand einer speziellen Untersuchung sein; doch möchte ich schon jetzt die Vermutung aussprechen, daß die Mischung von Phenyläthyl- und p-Oxyphenyläthylamin viel stärkere Effekte ergibt. Es ist auch noch nicht möglich, die Frage zu diskutieren, auf welchem Wege die proteinogenen Amine den Stoffwechsel beeinflussen. Von Phenyläthyl- und p-Oxyphenyläthylamin wissen wir vorläufig nur so viel, daß sie stark sympathisch wirkende Substanzen sind. Ihre Wirkung ist aber noch nicht ganz ausführlich studiert. Es darf aber wohl vermutet werden, daß wir mit dem Nachweis der Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine einen wichtigen Abschnitt der Chemie und Physiologie der Drüsen mit innerer Sekretion berühren und daß dieser Nachweis als weitere Stütze für die Hypothese dienen kann, die wirksamen chemischen Stoffe einiger innersekretorischer Drüsen seien Verbindungen von Art der proteinogenen Amine. Es braucht dabei noch nicht speziell hervorgehoben zu werden, daß mit der Auffindung der Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine die wirksamen Schilddrüsenstoffe noch nicht aufgedeckt sind. Dies wird erst dann der Fall sein, wenn es gelingen wird, aus der Schilddrüse den oder die wirksamen Stoffe chemisch rein zu isolieren, ihre chemische Konstitution aufzuklären und nachzuweisen, daß die Schilddrüsenwirkung eben an die Anwesenheit dieser Stoffe geknüpft ist. Mit anderen Worten: wenn wir in der Chemie und in der Physiologie der Schilddrüse so weit sein werden, wie wir bereits bei der Nebenniere sind, wo wir das Adrenalin nicht nur in reiner Form gewinnen, sondern auch synthetisch aufbauen können. Bis dahin bleibt natürlich die Schilddrüsenfrage ungelöst. Der Nachweis der Stoffwechselwirkung der Amine ist nur ein Schritt auf diesem weiten und schwierigen Wege. Weitere Untersuchungen sollen zeigen, ob die Stoffwechselwirkung außer den hier geprüften Grundsubstanzen der weit verzweigten Reihe der proteinogenen Amine auch anderen Verbindungen dieser Körperklasse zukommt. Insbesondere soll untersucht werden, inwieweit der Eintritt dieser oder jener Atomgruppe in das Molekül des Amins die Stoffwechselwirkung beeinflußt, denn es könnte sich bei den wirksamen Schilddrüsenstoffen höchstwahrscheinlich nur um Abkömmlinge der proteinogenen Amine handeln.

Noch eine Bemerkung über die Beziehung der Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine zur Frage der Eiweißnatur oder Eiweißfreiheit der wirksamen Schilddrüsenstoffe. Es gibt Anhänger dieser und jener Anschauung. Es scheint mir der Gegensatz zwischen den Vertretern beider Theorien nicht so schroff zu sein, wenn man die Frage anders stellt. Die Anhänger der Eiweißfreiheit werden ja die Heilerfolge, die man mit der Eingabe von Schilddrüseneiweiß erzielt, nicht bestreiten. Auch das Experiment zeigt unzweifelhaft die Wirksamkeit von Schilddrüseneiweiß. Daraus aber den Schluß zu ziehen, die wirksamen Schilddrüsenstoffe seien Eiweißkörper, ist unstatthaft. Das träge Eiweißmolekül wird kaum die energischen Wirkungen der Schilddrüse entfalten können. Außerdem würde man annehmen müssen, das Schilddrüseneiweiß werde von den Verdauungsfermenten nicht angegriffen und käme als solches zur Resorption. Beides läßt sich aber nicht mit unseren gegenwärtigen Anschauungen vereinigen. In vitro unterliegt das Schilddrüseneiweiß genau den gleichen Spaltungen durch Fermente des Magens, Pankreas und Darmes wie jeder andere Eiweißkörper. Die Anhänger der Eiweißtheorie müssen auch den Arbeiten der letzten Jahre Rechnung tragen, in welchen doch bewiesen wurde, daß es gelingt, auch mit eiweißfreien Extrakten aus der Schilddrüse Wirkungen zu erzielen. Beide Standpunkte können meiner Meinung nach eine Annäherung erfahren, wenn man annimmt, daß die wirksamen Schilddrüsenstoffe nicht native Eiweißkörper sind, wohl aber vom Eiweiß abstammen. Das Schilddrüseneiweiß ist die Muttersubstanz dieser Stoffe. Diese Hypothese stimmt mit allen bis jetzt gefundenen Tatsachen überein. Wenn wir die Reihe der nichteiweißartigen Abbauprodukte des Eiweißes durchsehen, so müssen wir auch die Gruppe der proteinogenen Amine in Betracht ziehen, als die einzige bis jetzt bekannte Reihe von einfach gebauten Eiweißabkömmlingen, die eine ausgesprochene physiologische Wirksamkeit besitzen. Der Nachweis der Stoffwechselwirkung dieser Amine dient als weiterer Beleg dafür, daß die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse nicht an die Anwesenheit von Eiweiß gebunden sein muß.

Methodik.

Sämtliche Versuche wurden an schilddrüsenlosen Hunden ausgeführt. Unter diesen befanden sich sowohl frisch operierte Tiere, als auch solche, denen die beiden Schilddrüsen bereits vor längerer Zeit entfernt wurden. Die beiden äußeren Parathyreoideae waren bei sämtlichen Hunden erhalten. Es wurden absichtlich Hunde ohne Schilddrüse gewählt, um erstens zu sehen, ob die proteinogenen Amine den fehlenden Stoffwechseleinfluß der Schilddrüse ersetzen können. Außerdem schien es zweckmäßig, die Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine an Tieren zu prüfen, die einen herabgesetzten Stoffwechsel haben. Ein evtl. Einfluß würde sich in diesem Fall besser übersehen lassen. Während der Versuche befanden sich die Hunde in großen Stoffwechselkäfigen. Es wurde auch dafür gesorgt, daß die Tiere ausreichende Bewegung haben. Sie wurden 1 bis 3mal täglich ins Freie gebracht. Außerdem wurden sie unter meiner Aufsicht von Zeit zu Zeit im Zimmer angebunden an der Kette für 1 bis 2 Stunden gelassen. Verluste an Harn und Kot entstanden dabei keine. Was Kot- und Harnabgabe betrifft, so waren die Tiere dressiert, den Harn morgens beim Spazieren abzugeben. Die Kotentleerung erfolgte meistens zu gleicher Zeit. Manche Hunde gaben dabei den gesamten 24stündigen Harn ab, andere urinierten noch im Käfig. Der Harn wurde dann in sauberen, mit Trichter versehenen Flaschen aufgefangen. Der Boden des Stoffwechselkastens wurde sehr oft gereinigt, damit der Harn beim Herunterfließen nicht verunreinigt wird. Der Harn wurde gemessen und dann quantitativ in einen mit Glasstöpsel versehenen Meßkolben übergeführt. Bis zur Marke wurde mit Wasser verdünnt, durchgemischt und 5 ccm zur N-Bestimmung nach Kjeldahl entnommen. Vor jeder Analyse wurde der Harn auf Eiweiß mit Sulfosalicylsäure und auf Zucker mit Hilfe der Trommerschen Probe untersucht. Diese Prüfungen geschahen täglich. Sie sind bei Stoffwechselversuchen am Hund unerläßlich. Der Kot wurde je nach seiner Beschaffenheit entweder direkt analysiert, oder mit Wasser gemischt, mit Schwefelsäure leicht angesäuert und auf dem Wasserbade zur Trockne gebracht. Vom Kotpulver wurden dann Doppelanalysen gemacht. Auch die Nahrung wurde auf ihren N-Gehalt analysiert. Es wurde zuerst versucht, die Tiere mit sterilisiertem Pferdefleisch nebst Zusätzen von Reis, Fett und Salz zu ernähren. Die Anwendung des sterilisierten Fleisches hätte den Vorteil, daß die Tiere während längerer Zeitperioden die gleiche Fleischprobe erhalten könnten. Die Erfahrung hat mir aber gezeigt, daß das sterilisierte Pferdefleisch nicht so gut von den Tieren ertragen wird. Insbesondere war es schwer, die Tiere damit ins N-Gleichgewicht zu bringen und zu halten. Ich ging daher zum frischen Pferdefleisch über. Jeden 6. Tag wurde neues Fleisch gekauft und auf N analysiert. Von jedem neu eingetroffenen Fleischquantum wurden 3 Analysen gemacht. Das Fleisch wurde in die Tagesrationen eingeteilt und bis zum Verbrauch in der Kälte aufbewahrt. Die einzelnen Fleischproben hatten ungefähr die gleiche Zusammensetzung, der N-Gehalt schwankte meistens nur um

ca. 0,1 %. Es wurde dabei so verfahren, daß das Tier auf eine bestimmte N-Zufuhr pro Tag gesetzt wurde, z. B. auf 400 g Fleisch mit 13,4 g N, wobei der Prozentgehalt des Pferdefleisches mit 3,35 g N berechnet ist. Enthielt das neu gekaufte Fleisch etwas mehr N, z. B. 3,42 %, so wurden nicht 400 g, sondern 392 g Fleisch gegeben. Auf diese Weise erhielten die Tiere immer die gleichen N-Mengen pro Tag. Die Schwankungen in den paar Gramm Fleisch sind so gering, daß sie außer Betracht fallen. Die Tiere erhielten täglich die gleichen Mengen Wasser. Das Körpergewicht wurde täglich nach der Harnentleerung bestimmt.

Die Abwägung der Nahrung und die Ermittlung des Körpergewichtes wurden zum größten Teil von mir selbst ausgeführt, in einigen Fällen unter meiner steten Kontrolle. Sämtliche Analysen des Harnes, Kotes und der Nahrung habe ich ausnahmslos selbst gemacht. Es wurde Wert darauf gelegt, längere Versuchsperioden einzuhalten. Aus diesem Grunde wurde von Hungerversuchen abgesehen. Letztere Versuche sind ja sehr wertvoll, weil sie uns leicht zum Grundumsatz der Tiere führen, sie haben aber den Nachteil der Kurzfristigkeit. Nach einigen Hungertagen ist man gezwungen, den Versuch abzubrechen und nicht selten gerade am wichtigsten Punkte. Der N-Gleichgewichtsversuch kostet mehr Mühe, ist aber sicherer. Jedem eigentlichen Versuch ging eine Vorperiode voran, während welcher das Tier die gleiche Nahrung bekam wie im Hauptversuch. Während dieser Zeit gewöhnten sich die Tiere an die Versuchsbedingungen. Dann wurde mit den Analysen und mit dem eigentlichen Versuch begonnen.

Versuch vom 2. bis 21. März 1918.

Schilddrüsenloser Jagdhund.

Am 13. Februar 1918 wurden dem Hunde die beiden Schilddrüsen operativ entfernt. Die Schilddrüsen waren nicht sehr groß, sie wogen im frischen Zustande 4,8 g. Dagegen waren die beiden äußeren Parathyreoideae ziemlich groß, die linke Parathyreoidea lag außerhalb der Kapsel. Die beiden oberhalb der Schilddrüse liegenden Parathyreoideae wurden erhalten. In die Wunde wurde ein gläsernes Drainrohr zum Abfluß der serösen Flüssigkeit eingenäht. Da die Tetaniegefahr besonders in den ersten Tagen nach der Operation besteht, so wurden dem Hunde vom 14. Februar an Schilddrüsentabletten gegeben. Am ersten Tage nach der Operation bekam das Tier 6 Tabletten zu je 0,324 g. Am 15. Februar erhielt es wieder 5 Tabletten. An diesem Tage betrug die Harnmenge 420 ccm, der Harn war frei von Eiweiß und Zucker. Auch am 16. und 17. Februar wurden je 3 Tabletten gegeben. Da keine tetanischen Erscheinungen aufgetreten sind und der Hund munter und kräftig aussah, wurde am 18. Februar mit der Zufuhr von Schilddrüsentabletten aufgehört. Während all dieser Tage bekam das Tier ausschließlich Pflanzennahrung und Fett. Fleischkost ist in den ersten postoperativen Tagen zu vermeiden, da dadurch die Tetaniegefahr erhöht wird. Erst am 20. Februar erhielt das Tier Pferdefleisch. Die Nahrung bestand

an diesem Tage aus 150 g Pferdefleisch, 20 g Fett, 20 g Reis, 2,5 g einer Salzmischung und 300 ccm Wasser. Körpergewicht des Tieres 13,15 kg.

21. Februar: Nahrung wie am 20. Februar. Der Hund ist munter, frißt. Die Wunde ist beinahe geheilt, sie wird mit Lysol gewaschen. Körpergewicht 13,10 kg.

22. Februar: Gleiche Nahrung. Körpergewicht 13,00 kg.

Am 23. Februar beginnt die Vorernährung des Tieres für den Versuch. Der Hund wurde dabei unter den gleichen Bedingungen gehalten wie in der Hauptversuchsperiode.

	Körpergew. in kg	Wassermenge in ccm	
23. Februar	13,00	375	
24. „	12,87	460	Vom 24. Febr. an bekommt
25. „	12,75	320	das Tier anstatt 150 g 200 g
26. „	12,83	350	Fleisch, die anderen Nah-
27. „	12,70	430	rungsbestandteile werden in
28. „	12,65	500	der gleichen Menge gegeben.

Diese Tabelle zeigt, daß die Nahrung unzureichend ist, da das Tier fortwährend an Körpergewicht verliert. Vom 28. Februar an wurde daher das tägliche Fleischquantum auf 225 g erhöht, außerdem kam eine Fettzulage von 10 g täglich hinzu. Die Nahrung bestand nun aus 225 g Pferdefleisch, 30 g Fett, 20 g Reis, 2,5 g Salzmischung und 500 ccm Wasser. Diese Nahrung blieb auch im Laufe des ganzen Versuches ungeändert. Sie enthielt 595 Cal, pro Kilo Tier kommen 48 Cal. Da sich das Tier im Käfig befand und keine größeren Körperbewegungen ausführte, so genügten diese Calorienwerte. Das Fleisch und der Reis wurden in abgekochtem Zustande gegeben. Für die Beurteilung der Diuresewirkung war es wichtig, daß das Tier täglich die gleichen Flüssigkeitsmengen bekommt. Es wurde dazu auf der Innenseite des Gefäßes, in dem der Hund seine Nahrung bekam, ein Strich eingeritzt und das Wasser immer bis zu dieser Marke nachgefüllt.

Am 2. März begann der eigentliche Versuch. Dieser zerfällt in 3 Abschnitte: in eine Vorperiode von 6 Tagen, in eine Hauptperiode von ebenfalls 6 Tagen und eine Nachperiode von 8 Tagen. Wie Tabelle I sowie Fig. 1 und 2 zeigen, befand sich das Tier während der Vorperiode im Stickstoffgleichgewicht. Die geringen Schwankungen in der Stickstoffausscheidung sind physiologisch und lassen sich kaum vermeiden. Auch das Körpergewicht bleibt ungefähr auf der gleichen Höhe. Schwankungen des Körpergewichtes zwischen 50 bis 100 g im Tag gehören zu den üblichen Erscheinungen. Am 7. Versuchstag wurde mit der Zufuhr der proteinogenen Amine begonnen. Die Eingabe erfolgte ausschließlich per os mit der Schlundsonde. Während der ersten zwei Tage der Hauptperiode wurden täglich 0,5 g Phenyläthylamin und 0,5 g salzsaures p-Oxyphenyläthylamin gegeben. Vom 3. Tage

an kamen noch 0,5 g Isoamylamin dazu[1]). Die Wirkung der Amine zeigt sich bereits nach 3maliger Eingabe derselben. Am 10. März steigt die N-Bilanz auf einen negativen Wert von 1,14 g, eine Zahl, die während der Vorversuchsperiode nie vorkam. Auch am folgenden Tage bleibt die negative Bilanz auf der gleichen Höhe. Die Wirkung der proteinogenen Amine zeigt sich sehr deutlich auch in der Nachperiode. So erreichte die negative Stickstoffbilanz ihren höchsten Wert von 1,87 und 1,86 g am 14. und 16. März, d. h. am ersten und dritten Tage nach Aussetzen der proteinogenen Amine. Die erhöhte Stickstoffausscheidung blieb aber auch in den nachfolgenden Tagen erhalten. Noch übersichtlicher werden die Resultate, wenn man die Stickstoffausgaben im Laufe von je 6 Tagen berücksichtigt. Während der 6tägigen Vorperiode verlor das Tier 1,16 g N, während der gleich dauernden Hauptperiode betrug der Stickstoffverlust unter dem Einfluß der proteinogenen Amine 5,07 g, während der Nachperiode 7,22 g N.

Berechnet man die negative Stickstoffbilanz pro kg Körpergewicht und Versuchstag, so erhält man folgende Zahlen:

Durchschnittliche negative N-Bilanz pro kg Körpergewicht und Versuchstag während der Vorperiode (normal) . . . . 0,092 g

Durchschnittliche negative N-Bilanz pro kg Körpergewicht und Versuchstag während der Hauptperiode (proteinogene Amine) 0,414 „

Durchschnittliche negative N-Bilanz pro kg Körpergewicht und Versuchstag während der Nachperiode . . . . 0,610 „

In Prozenten berechnet würde diese Erhöhung der negativen N-Bilanz gegenüber den Normaltagen in der Hauptperiode 350 %, in der Nachperiode 563 % betragen. Es handelt sich also um ganz ausgesprochene Steigerungen der N-Ausscheidung.

Die Berechnung pro kg und Tag ist vollkommen berechtigt, da das Tier fortwährend im Gewicht abnahm und daher die bloßen Stickstoffwerte weniger aussagen als die auf das kg Körpergewicht reduzierten.

Ich möchte noch auf eine Notiz in Abderhaldens Lehrbuch der physiologischen Chemie, die mir bei der Abfassung dieser Arbeit aufgefallen ist, hinweisen. Abderhalden berichtet über einen eigenen Versuch am Hund, wobei nach Eingabe von je 0,5 g Phenyl, p-Oxyphenyl und β-Imidazolyläthylamin „das vorhandene Stickstoffgleichgewicht stark gestört wurde“[2]). Aus der Notiz ist leider nicht zu ersehen, ob die Störung des Stickstoffgleichgewichtes in einer Vermehrung oder einer Herabsetzung der N-Ausscheidung bestand.

---

[1]) Der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel möchte ich für die mir in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellten Produkte auch an dieser Stelle danken.

[2]) Abderhaldens Lehrb. d. physiol. Chem., 3. Aufl., 2, 1399; Bemerkung 1.

Tabelle I.

Schilddrüsenloser Jagdhund. Die tägliche Nahrung besteht aus: 225 g Pferdefleisch, 30 g Fett, 20 g Reis, 2,5 g einer Salzmischung, Wasser bis zur Marke des Gefäßes (ca. 500 ccm). Die Vorernährung beginnt am 20. Februar.

Datum 1918	Präparat	Körpergewicht in kg	Harnmenge in ccm	N im Harn in g	N im Kot in g	N pro kg Körpergewicht ausgeschieden in g	Total N ausgeschieden in g	Total N eingenommen in g	N-Bilanz in g	N verloren im Laufe d. einzeln. Versuchsperioden (je 6 Tage) in g	Mittl. Körpergewicht pro Tag während d. einzelnen Versuchsperioden (je 6 Tage) in kg	Mittl. negative N-Bil. pro kg Körpergew. während d. einz. Versuchsper. (je 6 Tage) in g	Bemerkungen
2.III.	Kein	12,60	560	7,66	0,32	0,61	7,98	7,86	–0,12				Vorperiode
3.III.	"	12,75	470	7,17	0,32	0,56	7,49	7,86	+0,37				
4.III.	"	12,55	630	8,27	0,32	0,66	8,59	7,86	–0,73				Kot, Gew. feucht 53 g
5.III.	"	12,77	560	7,69	0,09	0,60	7,78	7,86	+0,08				
6.III.	"	12,50	475	8,07	0,09	0,64	8,16	7,86	–0,30				Kot, Gew. feucht 10 g
7.III.	"	12,45	620	8,07	0,09	0,64	8,16	7,86	–0,30	–1,16	12,60	–0,092	Kot, Gew. feucht 5,5 g
8.III.	0,5 g Phenyläth. + 0,5 g p-Oxyphenyläthylam. HCl	12,45	620	7,76	0,62	0,65	8,38	7,96 [1]	–0,42				Hauptperiode; Kot, Gew. feucht 43,7 g
9.III.	0,5 " " + 0,5 " " "	12,36	500	7,82	0,38	0,63	8,20	7,96 [1]	–0,24				
10.III.	0,5 g Phenyläthyl + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin HCl + 0,5 g Isoamylamin	12,25	570	8,80	0,38	0,72	9,18	8,04 [2]	–1,14				Kot, Gew. feucht 40 g
11.III.	0,5 g Phenyläthyl + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin HCl + 0,5 g Isoamylamin	12,20	575	8,97	0,22	0,73	9,19	8,04 [2]	–1,15				
12.III.	0,5 g Phenyläthyl + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin HCl + 0,5 g Isoamylamin	12,10	600	8,71	0,22	0,73	8,93	8,04 [2]	–0,89				
13.III.	0,5 g Phenyläthyl + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin HCl + 0,5 g Isoamylamin	12,04	600	9,05	0,22	0,75	9,27	8,04 [2]	–1,23	–5,07	12,23	–0,414	Kot, Gew. feucht 41,4 g
14.III.	Kein	11,96	600	9,32	0,41	0,78	9,73	7,86	–1,87				Nachperiode; Kot, Gew. feucht 19,3 g
15.III.	"	11,92	440	8,63	0,02	0,72	8,65	7,86	–0,79				
16.III.	"	11,87	640	9,70	0,02	0,82	9,72	7,86	–1,86				Kot, Gew. feucht 4,5 g
17.III.	"	11,80	560	8,17	0,21	0,70	8,38	7,86	–0,52				
18.III.	"	11,80	400	8,65	0,21	0,73	8,86	7,86	–1,00				
19.III.	"	11,80	400	8,83	0,21	0,75	9,04	7,86	–1,18	–7,22	11,86	–0,61	Kot, Gew. feucht 14,1 g
20.III.	Kein	11,75	450	8,10	0,26	0,70	8,36	7,86	–0,50				Kot, Gew. feucht 13,5 g
21.III.	"	11,75	500	8,60	0,26	0,73	8,86	7,86	–1,00	–1,50			Kot, Gew. feucht 8,0 g

Während der ganzen Versuchsdauer im Harn kein Zucker, kein Eiweiß.

[1]) **0,1 g N zugeführt mit den proteinogenen Aminen.** [2]) **0,18 g N zugeführt mit den proteinogenen Aminen.**

Zu Tabelle I.

Analysen des Pferdefleisches.

Fleisch vom 1. März.

Analyse I:	3,613 g	Fleisch verbrauchten	91,50 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4
„ II:	3,6435 „	„ „	85,20 „ „
„ III:	3,5625 „	„ „	84,00 „ „

N-Gehalt im Mittel = 3,38 %.

Fleisch vom 7. März.

Analyse I:	3,6270 g	Fleisch verbrauchten	86,55 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4
„ II:	3,4065 „	„ „	86,10 „ „
„ III:	3,4335 „	„ „	84,50 „ „

Mittlerer N-Gehalt = 3,45 %.

Fleisch vom 13. März.

Analyse I:	3,3720 g	Fleisch verbrauchten	82,10 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4
„ II:	3,4590 „	„ „	82,90 „ „
„ III:	3,5144 „	„ „	84,30 „ „

Mittlerer N-Gehalt = 3,38 %.

Fleisch vom 19. März.

Analyse I:	3,6880 g	Fleisch verbrauchten	85,75 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4
„ II:	3,6750 „	„ „	84,95 „ „

Mittlerer N-Gehalt = 3,30 %.

Bei diesem Hunde war die Gewichtsabnahme sehr ausgesprochen, bei den anderen Versuchen kam diese Erscheinung nicht so deutlich zum Ausdruck. Wie erwähnt, ob ein deutlicher Gewichtsverlust eintritt oder nicht, hängt von der Qualität und der Quantität der Nahrung und vom allgemeinen Körperzustand ab. Das Tier hat an Körpergewicht im Laufe von 20 Tagen 850 g verloren. Berechnet man das mittlere Körpergewicht pro Versuchstag, so ergibt sich folgendes:

Mittleres Körpergewicht pro Tag während der Vorperiode . .	12,60 kg
„ „ „ „ „ „ Eingabe der proteinogenen Amine	12,23 „
„ „ „ „ „ der Nachperiode . .	11,86 „

Die diuretische Wirkung war bei diesem Hunde nur wenig ausgesprochen, dagegen war sie ganz augenfällig in den anderen Versuchen. Durchblickt man die Zahlen der Tabelle I, so wird man doch eine gewisse, wenn auch nicht große Erhöhung der Harnausscheidung feststellen können. Im Harn fanden sich während der ganzen Periode weder Eiweiß noch Zucker. Der allgemeine Zustand des Hundes war gut. Er konnte ohne Hilfe in und aus dem Käfig springen, er hatte auch kein Zittern in den Extremitäten und zeigte sonst keine anormalen Symptome auf. Die Nahrung wurde nie verweigert.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in den Fig. 1 und 2 graphisch dargestellt. Die Erhöhung der täglichen Stickstoffausscheidung unter dem Einflusse der proteinogenen Amine ist aus Fig. 1 ersichtlich. Fig. 2 gibt die täglichen Schwankungen in der Stickstoffbilanz vor und nach der Eingabe der Amine wieder. Die Nullinie bedeutet Stickstoffgleichgewicht. Während in der Vorperiode die N-Bilanz schwach negativ, zweimal sogar positiv war, nimmt sie unter dem Einfluß der proteinogenen Amine einen hohen negativen Grad an.

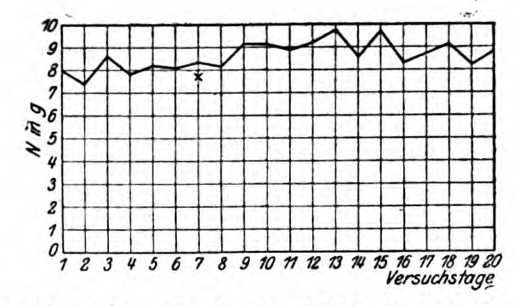


Fig. 1. Schilddrüsenloser Jagdhund. Stickstoffausscheidung im Harn und Kot vor und nach der Eingabe der proteinogenen Amine. Bei × beginnt die Zufuhr der proteinogenen Amine.

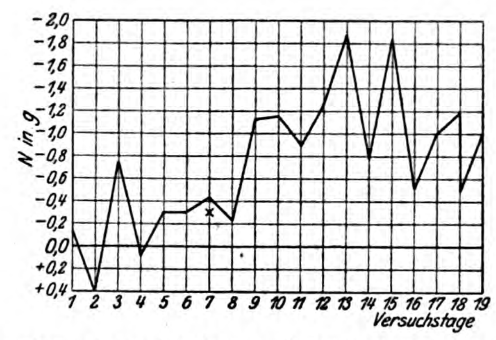


Fig. 2. Schilddrüsenloser Jagdhund. Schwankungen der N-Bilanz vor und nach der Eingabe der proteinogenen Amine. Die Nulllinie bedeutet Stickstoffgleichgewicht. Nach unten positive, nach oben negative N-Bilanz. Die Eingabe der proteinogenen Amine beginnt bei ×.

Versuch vom 9. bis 23. Dezember 1917.

Schilddrüsenloser Wolfshund.

Dieser Versuch wurde an einem Hunde ausgeführt, dem die beiden Schilddrüsen vor ca. 1 Jahr entfernt wurden. Die beiden äußeren Parathyreoidea sind erhalten geblieben. Der Hund ist zu Beginn des Versuches apathisch und unterscheidet sich in seiner Lebhaftigkeit von den Normaltieren. Im Käfig lag er fast den ganzen Tag und kümmerte sich wenig um die Umgebung. Die Vorernährung des Tieres beginnt bereits am 2. Dezember. Die Nahrung besteht aus 500 g Pferdefleisch, 100 g Fett, 25 g Reis, 5 g Salzmischung und Wasser bis zum Strich des Gefäßes. Pro kg Körpergewicht kommen 60 Cal. Der Versuch zerfällt in drei Perioden zu je 5 Tagen. Wie Tabelle II zeigt, hatte der Hund während der Vorperiode eine positive N-Bilanz, die sich auf einer gewissen Höhe ziemlich konstant hielt. Dann wurde mit der Eingabe von Phenyläthylamin und p-Oxyphenyläthylamin begonnen. Die Wirkung der Präpa-

rate war diesmal sehr rapid. Bereits am nächsten Morgen stieg die Harnmenge auf 2170 ccm an, während sie in den Vortagen um 1100 bis 1200 ccm schwankte. Die positive N-Bilanz schlug sofort in eine negative um. Am nächsten Tage nahm sie einen positiven Wert an, um dann am 4. und 5. Versuchstag wiederum negativ zu werden. Der Verlauf dieses Versuches ist ein ganz merkwürdiger, solche Ergebnisse findet man aber nicht selten. Ich möchte z. B. auf die Tabelle VII meiner früher publizierten Arbeit hinweisen[1]). Es handelte sich dort um einen Hungerversuch an einer schilddrüsenlosen Hündin. Auf Darreichung von 20 Schilddrüsentabletten Burroughs Wellcome à 0,324 g antwortete das Tier mit einem Anwachsen der Stickstoffausscheidung um mehr als das Doppelte. Am nächsten Tage war die N-Ausscheidung gegen die Norm sogar etwas vermindert, am nachfolgenden Tage aber wieder bedeutend erhöht. Dieser Versuch zeigt also das gleiche Bild wie der vorliegende, und die graphische Darstellung der Ergebnisse beider Versuche ist bis zum Verwechseln einander ähnlich (vgl. die Figuren 3 beider Publikationen). Angesichts dieser Resultate erhebt sich die Frage: wie ist diese plötzliche Steigerung der Stickstoffausscheidung zu erklären? Ist es eine gesteigerte Eiweißzersetzung oder eine Ausspülung zurückgehaltener stickstoffhaltiger Stoffe oder eine Kombination beider Erscheinungen? Diese Frage hat bereits B. Schöndorff[2]) aufgeworfen. Schöndorff nimmt an, daß es unter der Einwirkung von Schilddrüsensubstanzen zuerst zu einer Mobilisierung der Extraktivstoffe kommt, die ausgeschieden werden. Diese Annahme schien mir zuerst unwahrscheinlich. Manche Tatsachen könnten doch zugunsten dieser Hypothese sprechen, besonders wenn man die diuretische Wirkung der Schilddrüse berücksichtigt. Die Beeinflussung der Diurese durch Schilddrüsensubstanzen hat die Aufmerksamkeit vieler Forscher auf sich gelenkt. Von der diuretischen Schilddrüsenwirkung hat neuerdings H. Eppinger[3]) mit manchem sehr schönen Erfolg Gebrauch gemacht. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß die Ausspülung des Organismus unter dem Einfluß der diuretischen Schild-

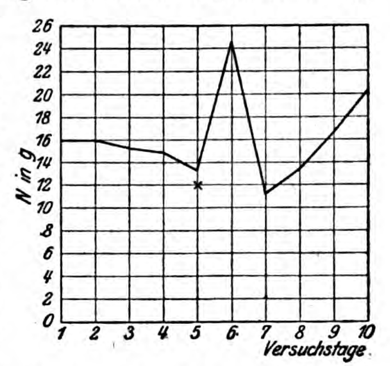


Fig. 3. Schilddrüsenloser Wolfshund. N-Ausscheidung im Harn und Kot vor und während der Eingabe der proteinogenen Amine. Bei × beginnt die Zufuhr der proteinogenen Amine.

[1]) Diese Zeitschr. 80, 285.

[2]) B. Schöndorff, Arch. f. d. ges. Physiol. 67, 395.

[3]) H. Eppinger, Zur Pathologie und Therapie des menschlichen Ödems. Julius Springer, Berlin 1917.

drüsenkomponente die erhöhte Stickstoffausscheidung, besonders in den ersten Tagen, sehr wesentlich unterstützt. In der Tat war in meinem Versuch am 14. Februar die negative Stickstoffbilanz von einer Erhöhung der Harnmenge fast um das Doppelte begleitet. Dagegen war am folgenden Tage die Stickstoffausscheidung nicht gesteigert, und auch die Harnmenge war normal. Die negative Stickstoffbilanz trat erst nach einigen Tagen wieder auf, diesmal vielleicht mehr unter dem Einfluß der eigentlichen Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine. Allerdings kommt die diuretische Wirkung auch hier zum Vorschein, indem am 17. und 18. Februar die Harnmengen 1450 und 1810 ccm betragen. Die Frage der diuretischen und der Stoffwechselwirkung der Schilddrüsensubstanzen kann erst dann völlig abgeklärt werden, wenn es gelingen sollte, die wirksamen Prinzipien der Schilddrüse näher zu charakterisieren und zu erfahren, ob die gleiche Substanz befähigt ist, sowohl den Stoffwechsel als auch die Diurese zu heben oder ob die beiden typischen Schilddrüsenwirkungen an verschiedene Stoffe geknüpft sind. Es ist beachtenswert, daß die proteinogenen Amine auch in dieser Richtung viel Ähnlichkeit mit der Wirkung der Schilddrüsenstoffe aufweisen.

Wie bei jedem Stoffwechselversuch werden auch die Zahlen der Tabelle II übersichtlicher, wenn man außer den täglichen Bilanzen auch die Ergebnisse einzelner Versuchsperioden betrachtet. Während der 5 tägigen Vorperiode hatte der Hund eine positive N-Bilanz von 9,97 g. Pro kg Körpergewicht kommen im Durchschnitt + 0,37 g N im Tag. Die 5 tägige Hauptperiode schließt dagegen mit einer negativen N-Bilanz von 6,27 g ab. Pro kg Körpergewicht und Tag kommen durchschnittlich — 0,23 g N. Während der Nachperiode nimmt die N-Bilanz wieder einen positiven Wert an. Sie beträgt in summa 9,69 g N, pro kg und Tag + 0,36 g N, also fast der gleiche Wert wie in der Vorperiode (0,37 g). Eine Nachwirkung bestand also bei diesem Hunde nicht. Das Auftreten oder Ausbleiben einer Stoffwechselnachwirkung scheint zu einem gewissen Teil von individuellen Momenten abzuhängen. Das Körpergewicht unterlag während der Versuchsdauer einer geringen Abnahme. Das durchnittliche Körpergewicht pro Tag betrug während der Vorperiode 26,98 kg, während der Hauptperiode 26,77 kg, während der Nachperiode 26,72 kg. Die Diurese war gesteigert am 14., 17. und 18. Februar.

In diesem Versuch war die Beeinflussung der allgemeinen Erregbarkeit des Tieres durch die proteinogenen Amine besonders deutlich. Das Auftreten einer größeren Lebhaftigkeit ist eine Begleiterscheinung, die man bei Tieren während der Erhöhung des gesamten Stoffwechsels sehr oft sieht. Man berührt damit allerdings ein Thema, das mit großer Vorsicht behandelt werden muß, da man bei der Beurteilung des Zustandes eines Tieres sehr leicht Fehler machen kann. Das subjektive Moment fällt dabei sehr ins Gewicht. Ich möchte mich daher mit der Angabe begnügen, daß nach dem übereinstimmenden Urteil von vier Personen, die Gelegenheit hatten, den Hund täglich zu beobachten, das Tier

Tabelle II.

Schilddrüsenloser Wolfshund.

Die tägliche Nahrung besteht aus: 500 g Pferdefleisch, 25 g Reis, 100 g Fett, 5 g einer Salzmischung, Wasser bis zur Marke des Gefäßes (ca. 500 ccm). Die Vorernährung beginnt am 2. Dezember.

Datum: 1917	Präparat	Körpergewicht in kg	Harnmenge in ccm	N im Harn in g	N im Kot in g	N pro kg Körpergewicht ausgeschied. in g	Total-N ausgeschieden in g	Total-N eingenommen in g	N-Bilanz pro Tag in g	N-Bilanz im Laufe der einzelnen Versuchsperioden (je 5 Tage) in g	Mittl. Körpergewicht pro Tag während der einzelnen Versuchsperioden (je 5 Tage) in kg	Mittlere N-Bilanz pro kg Körpergew. während d. einz. Versuchsperioden (je 5 Tage) in g	Bemerkungen
9. XII.	kein	26,65	1250	15,98	0,52	0,60	16,50	17,87	+ 1,37				Vorperiode
10. XII.	"	27,05	1210	15,93	0,52	0,59	16,45	17,87	+ 1,42				Kot
11. XII.	"	26,75	1075	15,35	0,48	0,57	15,83	17,87	+ 2,04				
12. XII.	"	27,15	1125	14,96	0,48	0,55	15,44	17,87	+ 2,43				
13. XII.	"	27,30	1125	13,33	0,48	0,49	13,81	16,52	+ 2,71	+ 9,97	26,98	+ 0,37	
14. XII.	0,2 g Phenyl. + 0,2 g p-Oxyphenyläthylamin	26,60	**2170**	24,47[1]	0,48	0,92	25,95	16,52	**− 9,43**				Hauptperiode Kot
15. XII.	0,2 g " + 0,2 g "	26,92	1135	11,09[1]	0,42	0,41	11,51	16,52	+ 5,01				
16. XII.	0,2 g " + 0,2 g "	27,20	1225	13,39	0,42	0,49	13,81	16,52	+ 2,71				
17. XII.	0,5 g " + 0,5 g "	26,80	**1450**	16,70	0,42	0,62	17,12	16,52	**− 0,60**				
18. XII.	kein	26,35	**1810**	20,06	0,42	0,76	20,48	16,52	**− 3,96**	− 6,27	26,77	− 0,23	Kot
19. XII.	kein	26,45	1200	14,51	0,42	0,55	14,93	16,52	+ 1,59				Nachperiode
20. XII.	"	26,75	1160	11,72	0,42	0,44	12,14	16,52	+ 4,38				
21. XII.	"	26,95	1280	14,61	0,42	0,54	15,03	16,52	+ 1,49				Kot
22. XII.	"	26,70	1320	16,81	0,53	0,63	17,33	16,52	− 0,81				
23. XII.	"	26,75	1025	12,95	0,53	0,48	13,48	16,52	+ 3,04	+ 9,69	26,72	+ 0,36	

Im Harn kein Zucker, kein Eiweiß.

Analysen des Pferdefleisches. Fleisch vom 6. Dez. Analyse I: 3,4490 g Fleisch verbrauchten 86,70 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4; Analyse II: 3,5620 g Fleisch verbrauchten 88,90 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Mittlerer N-Gehalt = 3,50%.

Fleisch vom 13. Dez. Analyse I: 3,3810 g Fleisch verbrauchten 77,80 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Analyse II: 3,5920 g Fleisch verbrauchten 83,90 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Mittlerer N-Gehalt = 3,24%.

Fleisch vom 21. Dez. Analyse I: 3,5410 g Fleisch verbrauchten 83,75 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Analyse II: 3,6090 g Fleisch verbrauchten 87,90 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4. Mittlerer N-Gehalt = 3,36%.

[1]) Doppelanalyse.

Tabelle

Schilddrüsenloser

Die tägliche Nahrung besteht aus: 550 g Pferdefleisch, 25 g Fett,

Die Vorernährung beginnt

Datum 1918	Präparat	Körpergewicht in kg	Harnmenge in ccm
4. II.	kein	26,50	1075
5. II.	"	26,70	1160
6. II.	"	26,80	1100
7. II.	"	26,75	950
8. II.	"	26,70	1000
9. II.	"	26,80	1025
10. II.	"	26,72	925
11. II.	"	26,68	900
12. II.	"	26,85	1000
13. II.	"	26,95	1050
14. II.	"	26,95	950
15. II.	0,5 g Phenyl.- + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin + 0,5 g Isoamylamin	26,85	1250
16. II.	0,3 g " + 0,5 g " + 0,3 g "	26,90	960
17. II.	0,5 g " + 0,5 g " + 0,5 g "	26,95	1510
18. II.	0,5 g Phenyläthylamin + 0,5 g p-Oxyphenyläthylamin HCl	26,75	1100
19. II.	0,5 g Phenyl.- + 0,8 g p-Oxyphenyläthylamin + 0,8 g Isoamylamin	26,85	1000
20. II.	kein	26,90	1300
21. II.	"	26,87	1180
22. II.	0,5 g Phenyl.- + 1,0 g p-Oxyphenyläthylamin + 1,0 g Isoamylamin	26,70	1140
23. II.	kein	26,75	1025
24. II.	"	26,75	1100
25. II.	"	26,75	1025
26. II.	"	26,90	1210
27. II.	"	26,90	1210
28. II.	"	26,80	1060

seit dem 16. Dezember besonders lebhaft und erregbar geworden ist. Diese Erscheinungen gingen allmählich zurück und ca. 1 Monat nach Aussetzen des Präparates war der Hund ebenso apatisch wie vorher. Es kann daher keinem Zweifel unterliegen, daß die proteinogenen Amine in diesem Falle nicht nur den Stoffwechsel, sondern auch den allgemeinen Zustand des Tieres sehr wesentlich beeinflußt haben.

Versuch vom 4. bis 28. Februar 1918.

Schilddrüsenloser Wolfshund.

Nach einer 7 wöchentlichen Unterbrechung wurde an dem gleichen Hund ein weiterer Versuch mit Phenyläthyl-, p-Oxyphenyläthyl- und Isoamylamin ausgeführt. Die Nahrung war die gleiche wie im Versuch vom 9. Dezember, nur mußte ich dem Tiere anstatt 100 g 25 g Fett (es bekam dagegen anstatt 500 g 550 g Fleisch) geben. Diese Nahrung

III.

Wolfshund.

25 g Reis, 5 g einer Salzmischung, H_2O bis zur Marke des Gefäßes.
am 27. Januar.

N im Harn in g	N im Kot in g	N pro kg Körpergewicht ausgeschied. in g	Total-N ausgeschieden in g	Total-N eingenommen in g	N-Bilanz pro Tag in g	N-Bilanz im Laufe der einzelnen Versuchsperioden in g	Mittl. Körpergewicht pro Tag während der einzelnen Versuchsperioden in kg	Mittlere N-Bilanz pro kg Körpergew. während der einzelnen Versuchsperioden in g		Bemerkungen
14,01	0,40	0,52	14,41	18,50	+ 4,09				Vorperiode	
14,34	0,40	0,54	14,74	18,50	+ 3,76					
15,92	0,40	0,60	16,32	18,50	+ 2,18					
16,53	0,40	0,62	16,93	18,50	+ 1,57					
15,80	0,40	0,60	16,20	18,50	+ 2,30					Kot
16,26	0,40	0,61	16,66	18,50	+ 1,84					
14,63	0,56	0,55	15,19	18,50	+ 3,31					
13,34	0,56	0,50	13,90	18,82	+ 4,92					
14,17	0,56	0,54	14,73	18,82	+ 4,09					
14,12	0,56	0,52	14,68	18,82	+ 4,14					
14,29	0,56	0,53	14,85	18,82	+ 3,97	+ 36,17	26,76	+ 1,35		Kot
15,52	0,56	0,58	16,10	19,02 [1]	+ 2,92				Versuchsperiode	
15,45	0,50	0,58	15,95	18,92 [2]	+ 2,97					
18,80	0,50	**0,70**	19,30	19,02 [1]	**− 0,28**					
16,26	0,50	0,61	16,76	18,92 [2]	+ 2,16					
13,80	0,50	0,51	14,30	19,07 [3]	+ 4,77					
18,61	0,50	**0,70**	19,11	18,82	**− 0,29**					
18,50	0,50	**0,70**	19,00	18,82	**− 0,18**					Kot
16,14	0,49	0,60	16,63	19,12 [4]	+ 2,49					
16,40	0,49	0,61	16,89	18,82	+ 1,93					
19,64	0,49	**0,73**	20,13	18,82	**− 1,31** [5]					Kot
15,02	0,67	0,56	15,69	18,82	+ 3,13	+ 18,31				
20,23	0,67	**0,75**	20,90	18,82	− 2,08 [5]					Kot
17,90	0,67	0,66	18,57	18,82	+ 0,25					
18,10	0,67	0,68	18,77	18,82	+ 0,05	− 1,78 } + 16,53	26,83	+ 0,62		Kot

erwies sich vollkommen ausreichend, da während 11 Tagen vom 4. bis zum 14. Februar das Tier an Körpergewicht nicht verloren, sondern sogar gewonnen hat. Auch hier ging eine Vorernährungsperiode voran, und es wurde angestrebt, den Hund ins Stickstoffgleichgewicht zu setzen. Dieses war aber nicht zu erreichen. Es bestätigte sich hier die bereits von anderen Autoren gemachte Erfahrung, daß es häufig unmöglich ist, schilddrüsenlose Tiere ins Stickstoffgleichgewicht zu bringen. Nach einer 11 tägigen Normalperiode wurde am 15. Februar mit der Eingabe der

---

[1]) 0,2 g N mit den proteinogenen Aminen zugeführt.
[2]) 0,1 g „ „ „ „ „ „
[3]) 0,25 g „ „ „ „ „ „
[4]) 0,30 g „ „ „ „ „ „
[5]) Doppelanalyse.

proteinogenen Amine begonnen. Nach 3 maliger Zufuhr derselben ging sowohl die Stickstoff- wie die Harnausscheidung in die Höhe. Während im Laufe der Vorperiode die N-Bilanz ausnahmslos positiv war, ist sie am 17. Februar negativ. Negative Bilanzen finden wir dann auch am 20., 21., 23. und 25. Februar. An den 2 letzten Versuchstagen, dem 27. und 28. Februar, hat zwar die N-Bilanz ein positives Vorzeichen, die Zahlen sind aber ganz gering: + 0,25 und + 0,05 g N.

Während der 11 tägigen Vorperiode setzte das Tier 36,17 g N, während den nachfolgenden 14 Versuchstagen nur 16,53 g N an, also weniger als die Hälfte, die längere Versuchsdauer von 3 Tagen nicht gerechnet. Charakteristisch ist der fortwährende Wechsel von negativen und positiven N-Bilanzen. Diese Erscheinung findet man bei fast allen Stoffwechselversuchen. Der Organismus sucht eine negative N-Bilanz mit einer nachfolgenden Einschränkung der N-Abgabe zu kompensieren. Dauert der Einfluß des Präparates weiter, so tritt nach einiger Zeit wieder negative N-Bilanz ein, die aber ihrerseits von einer positiven gefolgt wird.

Insgesamt hat der Hnud im Laufe dieses Versuches 2,8 g Phenyläthylamin, 3,6 g p-Oxyphenyläthylaminchlorhydrat und 3,1 g Isoamylamin erhalten. Diese Mengen wurden, ebenso wie in allen anderen Versuchen, sehr gut ertragen. Im Harn trat nie Zucker oder Eiweiß auf, die Freßlust war auch nicht gestört. Nur am 15. und am 22. Februar konnte ich nach Eingabe der proteinogenen Amine Erscheinungen sehen, die meines Wissens zuerst von Ewins und Laidlaw[1]) beschrieben sind. Ca. 15 Min. nach Eingabe von 0,5 g Phenyläthylamin, 0,5 g p-Oxyphenyläthylaminhydrochlorid, 0,5 g Isoamylamin zeigte der Hund eine sehr beschleunigte Atmung, der Mund war offen, die Zunge ausgestreckt, es floß auch etwas Speichel. Diese Symptome verschwanden nach 10 Minuten, und das Tier erschien darauf vollkommen normal. In den nachfolgenden Tagen rief die Eingabe der proteinogenen Amine keine Symptome hervor. Erst am 22. Februar, als nach einer 2 tägigen Pause wieder mit der Zufuhr der Amine begonnen wurde, traten ähnliche Symptome, aber in verminderter Stärke auf. Ewins und Laidlaw bezeichnen diese Symptome als Folgen der Sympathicuserregung. Wie erwähnt, sind es aber keine konstanten Erscheinungen. Unter den 23 Versuchen, die ich mit den proteinogenen Aminen gemacht habe, kamen nur 2 mal die beschriebenen Erscheinungen zum Vorschein. Im allgemeinen erweisen sich im Tierversuch Phenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin und auch Isoamylamin als ziemlich harmlose Verbindungen, sie werden aber nicht selten von manchen Forschern als giftig betrachtet. Außer meinen eigenen angeführten Versuchen, in welchen ich wochenlang die Hunde mit den genannten Aminen fütterte, möchte ich noch auf Versuche von Guggenheim und Löffler[2]) hinweisen. Bei diesen Experimenten wurden Kaninchen und Hunden Phenyläthyl-,

---

[1]) Ewins und Laidlaw, Journ. of Physiol. 41, 79.

[2]) Guggenheim und Löffler, diese Zeitschr. 72, 325.

p-Oxyphenyläthyl-, Isoamylamin grammweise eingegeben, von irgendwelchen toxischen Folgen wird nicht berichtet. Eigene Versuche haben mir ferner gezeigt, daß auch Ratten anstandslos größere Mengen dieser proteinogenen Amine ertragen können. Ob auch der Mensch den proteinogenen Aminen gegenüber so wenig empfindlich ist, müssen weitere Erfahrungen zeigen.

Zu Tabelle III.

Analysen des Pferdefleisches.

Fleisch vom 4. Februar.

Analyse I: 3,7000 g Fleisch verbrauchten 88,90 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
" II: 3,6830 " " " 92,40 " $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
N-Gehalt im Mittel = 3,43 %.

Fleisch vom 11. Februar.

Analyse I: 3,5360 g Fleisch verbrauchten 94,30 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
" II: 3,4980 " " " 85,80 " $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
N-Gehalt im Mittel = 3,43 %.

Fleisch vom 13. Februar.

Analyse I: 3,4320 g Fleisch verbrauchten 82,50 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
" II: 3,5415 " " " 81,70 " $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
N-Gehalt im Mittel = 3,33 %.

Fleisch vom 25. Februar.

Analyse I: 3,370 g Fleisch verbrauchten 82,00 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
" II: 3,369 " " " 82,10 " $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
N-Gehalt im Mittel = 3,41 %.

Außer den beschriebenen Versuchen habe ich noch einen Versuch an einer schilddrüsenlosen Hündin ausgeführt. Der Versuch dauerte vom 7. bis 21. Januar 1918. Zur Anwendung kamen Phenyläthylamin und p-Oxyphenyläthylamin. Die summarischen Ergebnisse dieses Versuches sind folgende: Während der ersten 3 Tage der Vorperiode betrug die positive N-Bilanz 15,99 g, während der darauf folgenden weiteren 3 Tage + 14,84 g N. Unter der Einwirkung der proteinogenen Amine sank die positive N-Bilanz in den ersten 3 Tagen des Hauptversuches auf 5,31 g, in den nachfolgenden 3 Tagen der gleichen Periode auf 6,25 g N. Die Abnahme des Stickstoffansatzes unter dem Einfluß der proteinogenen Amine ist also sehr deutlich. In den 3 Tagen der Nachperiode ging die positive N-Bilanz etwas in die Höhe, sie betrug 8,10 g. Insgesamt erhielt die Hündin 2,2 g Phenyläthylamin und 3,2 g p-Oxyphenyläthylaminhydrochlorid; Nebenerscheinungen waren keine zu sehen.

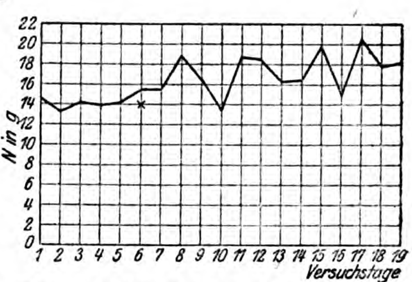


Fig. 4. Schilddrüsenloser Wolfshund. N-Ausscheidung im Harn und Kot vor und nach der Eingabe der proteinogenen Amine. Die Zufuhr der letzteren beginnt bei ×.

Über die Wirkung der proteinogenen Amine auf den Gaswechsel hoffe ich in einer der nächsten Mitteilungen zu berichten. An dieser Stelle möchte ich mich mit dem Hinweis begnügen, daß die proteinogenen Amine auch den Gaswechsel in ganz charakteristischer Weise beeinflussen.

Zusammenfassung.

1. In Fortsetzung früherer Untersuchungen über die Stoffwechselwirkung von eiweißfreien Schilddrüsenauszügen und in Verfolgung einiger in Stoffwechselversuchen gemachten Beobachtungen wurden die proteinogenen Amine auf ihre Stoffwechselwirkung geprüft. Die an schilddrüsenlosen Hunden ausgeführten Versuche haben ergeben, daß Phenyläthylamin, p-Oxyphenyläthylamin (und evtl. auch Isoamylamin) eine hohe Steigerung des Stickstoffwechsels bewirken. Zugleich wird auch die Diurese beträchtlich vermehrt. Je nach der Ernährung und dem allgemeinen Zustand der Tiere tritt auch eine mehr oder weniger starke Abnahme des Körpergewichtes ein.

All diese Erscheinungen stimmen vollkommen mit denen nach Eingabe von Schilddrüsenpräparaten überein.

2. Die Auffindung der Stoffwechselwirkung der proteinogenen Amine weist nochmals auf die hohe biologische Wichtigkeit dieser Körperklasse hin, um so mehr, als diese Amine weit verbreitet sind und sich unmittelbar aus den Aminosäuren ableiten. Sie liefert zugleich einen weiteren Beitrag zu den von verschiedenen Autoren vermuteten nahen Beziehungen der proteinogenen Amine zu den innersekretorischen Produkten einiger Drüsen.

3. Da an den schilddrüsenlosen Tieren die proteinogenen Amine auf den Stickstoffwechsel in gleicher Weise einwirkten wie die Schilddrüseneiweißkörper, so darf daraus im Verein mit den bereits bekannten Tatsachen geschlossen werden, daß auch die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse nicht auf der Wirkung eines Eiweißkörpers beruhen muß, daß vielmehr die Schilddrüseneiweißkörper als die Muttersubstanzen der wirksamen Stoffe anzusehen sind.

Physiologische Versuche mit aromatischen Diaminen.

Von
Richard Meißner.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 10. Oktober 1918.)

In einer vorhergehenden Arbeit[1]) habe ich die Hauptsymptome der p-Phenylendiaminvergiftung: Muskelstarre und nervöse Erscheinungen am Frosche, Ödeme, Zungenschwellung und zentrale Phänomene beim Warmblüter auf ihre Beziehungen zum Nervensystem untersucht und nach Antagonisten in der Wirkung gefahndet. Hier möchte ich vom chemisch-biologischen Gesichtspunkte aus die Abhängigkeit dieser Erscheinungen von konstitutiven Bedingungen verfolgen und habe deshalb Derivate und Isomere des obigen Körpers zur Untersuchung gezogen.

Es standen mir außer Meta- und Orthophenylendiamin noch einige andere para-Verbindungen zur Verfügung und zwar: Dimethyl-p-phenylendiamin, Tetramethyl-p-phenylendiamin, Diäthyl-p-phenylendiamin, Monacetyl-p-phenylendiamin, Diacetyl-p-phenylendiamin, Äthoxy-p-phenylendiamin.

Außer diesen Phenylendiaminen untersuchte ich einige Diphenylamine, für deren Überlassung ich den Höchster Farbwerken zu Dank verpflichtet bin:

4 Amido-2′-4′-diamidodiphenylamin,
4 Amido-2′-4′-diamidodiphenylamin-3-sulfosäure.

Schließlich verglich ich mit Paraphenylendiamin, das seiner chemischen Struktur nach auch als ein Diaminobenzol aufgefaßt

[1]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 4, 34.

werden kann, das Triaminobenzol, Triaminoazobenzol, Triaminotoluol und Triaminophenol.

Zunächst prüfte ich die Isomeren des Paraphenylendiamins: das Ortho- und Metaphenylendiamin.

Literaturangaben über die physiologische Wirkung von Ortho- und Metaphenylendiamin finden sich nicht sehr viele. Dubois und Vignon geben einige kurze Notizen über den Effekt beim Hunde und bezeichnen das Metaphenylendiamin als fast ebenso giftig wie die Paraverbindung. Es soll örtlich appliziert starken Schnupfen, Niesen und Husten hervorrufen. Von Boye[1]) wurde es unter dem Namen Lentin innerlich gegen Durchfälle empfohlen, und Matsumoto sagt von seinen Frosch- und Mäuseversuchen über Metaphenylendiamin folgendes: „Das wichtigste Symptom ist die Dyspnoe. Weder Lähmungen noch Konvulsionen traten ein. Der Leichenbefund bietet nichts Besonderes, abgesehen von Pigmentablagerung im Leber- und Milzgewebe. Auffallend ist, daß bei Metaphenylendiamin keine Verfärbung der Muskeln eintritt." Von Orthophenylendiamin heißt es bei Matsumoto: „Durch Zusatz von Ortho-Phenylendiamin zum Blut wird die gleiche Farbenveränderung hervorgerufen wie durch m- und p-Diamin. Auch spektroskopisch ergibt sich das Gleiche. Unter dem Mikroskop sieht man statt der schwarzen, nadelförmigen Krystalle der Paraverbindungen braune, prismenförmige. Das Verhalten zur Koagulation des Blutes ist wie bei Para- und Meta-Phenylendiamin. Orthophenylendiamin wirkt auch sehr schwach. Als Symptome haben wir Atembeschleunigung gesehen. Der Leichenbefund bietet nichts Besonderes, abgesehen von der Pigmentablagerung im Leber- und Milzgewebe beim Frosche. Eine Färbung des Gewebes tritt nicht ein."

Bemerkenswert ist es, daß schon vor 22 Jahren mit den zwei Isomeren: Ortho- und Paraphenylendiamin vergleichende Versuche angestellt wurden, um festzustellen, welche der beiden Substanzen giftiger wirke. Th. Bokorny[2]) bediente sich seiner Zeit verschiedener Algenarten, Infusorien und Würmer, die er außer in ganz anders zusammengesetzten chemischen Flüssigkeiten auch in schwächeren und stärkeren Lösungen der neutralisierten Ortho- und Paraverbindung brachte und nun beobachtete, wovon diese Organismen zuerst vergiftet wurden.

Er fand, daß eine 0,02 $^0/_0$ige neutrale Lösung der Orthoverbindung binnen 24 Stunden alles Leben abtötete, daß schon in einer 0,005 $^0/_0$igen Lösung dieser Substanz viele Zellen vernichtet wurden. In der 0,02 $^0/_0$igen Lösung der Paraverbindung waren nach 24 Stunden noch lebende Infusorien.

Zu diesen Prüfungen bilden meine Versuche ein Gegenstück. Sie mögen kurz hier wiedergegeben sein:

---

[1]) Inneres Zentralblatt **4**, 1905.

[2]) Bokorny, Arch. f. d. ges. Physiol. **64**, 1896.

Versuch 1.

Esculenta, 40 g, linker Plexus ischiadicus durchschnitten, erhält 0,029 g = 0,6 mg pro g Tier Orthophenylendiamin[1]), schwach alkalisch, in den Kopflymphsack. Tier zeigt deutlichen Buckelreflex und leichte Narkosewirkung, sonst nichts; lebte nach 2 Tagen noch unverändert, alle Extremitäten weich.

Versuch 2.

Esculenta, 25 g, linker Plexus ischiadicus durchschnitten, erhält 4 cg = 1,6 mg pro g Tier Orthophenylendiamin in den Kopflymphsack. Nach 14 Stunden Tier noch ganz munter, alle Extremitäten noch weich und flektiert, nach 24 Stunden das gleiche Bild.

Versuch 3.

Esculenta 52 g, linker Plexus durchschnitten, erhält 0,03 g = 0,6 mg pro Tier Metaphenylendiamin (schwach alkalisch) in den Kopflymphsack. Nach $^1/_2$ Stunde zeigt Tier deutlichen Buckelreflex und leichte Narkosewirkung, sonst nichts; ist noch nach 2 Tagen ganz munter.

Versuch 4.

Esculenta 25 g, linker Plexus ischiadicus durchschnitten, erhält 4 cg = 1,6 mg pro g Tier Metaphenylendiamin Kahlbaum in den Kopflymphsack. 14 Stunden nach der Injektion Tier noch ganz munter; keinerlei Starre, alle Extremitäten weich und flektiert. Nach 2 Tagen derselbe Zustand.

Versuch 5.

9. II. 10^{00} früh. Kaninchen 1800, Temperatur 39,1°, erhält 0,6 g Ortho-Phenylendiamin per os.

Nachmittags 6^{00}. Tier zeigte bis jetzt keinerlei Veränderungen, keine Ödeme. Temperatur 39,1°.

10. II. 10^{00} früh. Tier atmet etwas schwer und röchelt, zeigt aber keine Schwellungen am Körper. Es frißt und sitzt ruhig. Temperatur 39,0°.

12. II. Tier völlig normal, im Harn Temperatur 39,1°; es erhält heute 1,0 Ortho-Phenylendiamin subcutan, nachmittags; Tier ganz normal, keine Ödeme.

14. II. Tier völlig munter, Temperatur 39,1°. Im Harn E — Z —, erhält heute 0,5 g Orthophenylendiamin innerhalb 30 Minuten intravenös. Keinerlei Beeinflussung der Atmung und der Temperatur.

15. II. Tier ist munter und frißt gut.

Da diese großen Dosen reaktionslos blieben, muß man auf einen großen Unterschied in der Wirkung zwischen Para- und Orthophenylendiamin bei Kaninchen schließen. Es war

[1]) Alle Lösungen wurden aus reinsten Präparaten (Kahlbaum und Höchster Farbwerke) hergestellt und nur in neutraler oder schwach alkalischer Lösung injiziert.

mir von früher nun bekannt, daß Katzen auf Paraphenylendiamin außerordentlich heftig reagieren. Folgende Versuche möchte ich dafür hier einfügen:

Versuch 6.

Katze, 2000 g, Tracheotomie und

12^{13} 0,43 g Paraphenylendiamin, schwach alkalisch, subcutan.

12^{30}. Sitzt ruhig, Atmung beschleunigt.

12^{45}. Sehr starke Dyspnoe trotz Tracheotomie (Trachealkanüle ist frei von Gerinnsel).

1^{00}. Atembeschleunigung hat immer noch zugenommen; Atmung ist jetzt jagend, zeitweise saccadiert. Allgemeiner großer Schwächezustand ist eingetreten. Tier vermag nicht mehr dauernd zu sitzen. Ab und zu richtet es sich auf, um gleich wieder umzufallen. Zunge weit aus dem Maule, nicht geschwollen.

1^{05}. Tier liegt auf der Seite; einige zuckende Bewegungen der Beine. Atmung nicht mehr so frequent.

1^{10}. Heftige Krämpfe des ganzen Tieres; Pfoten sind noch rosa; auch im Maule keine Methämoglobinfarbe.

1^{13}. Exitus.

Sektion: Lungen, Leber normal. Im Blut kein Methämoglobin. Keine Ödeme, keine Zungenschwellung.

Versuch 7.

Katze, 2200 g, normal, erhält

10^{10} 0,04 (4 cg) Paraphenylendiamin schwach alkalisch per os ($^1/_{12}$ der gewöhnlichen Dosis).

10^{35}. Liegt ruhig, atmet langsam.

10^{55}. Halbschlaf.

11^{05}. Schläft fest.

11^{25}. Plötzlich heftiges Würgen, Versuche zu erbrechen, dazu klonische Krämpfe der Extremitäten; Zunge ragt etwas vergrößert aus der Schnauze.

11^{26}. Starre, Exitus.

Sektion: Schnauze voll Mageninhalt; in der Trachea und im Kehlkopf kein Mageninhalt. Stimmbänder stark sulzig geschwollen. Zunge blutig und deutlich geschwollen. Am Halse und Kopfe sonst keine Ödeme.

Versuch 8.

Katze, 2700 g, erhält

12^{40} tiefe Tracheotomie.

12^{45}. 0,2 g Paraphenylendiamin subcutan.

1^{25}. Starke Atembeschleunigung.

1^{45}. Zeitweise Atembeschleunigung noch stärker, zeitweise liegt das Tier da wie in Narkose.

2^{00}. Maul weit auf, Zunge heraus, Hals geschwollen, Pfoten bleiben rosa gefärbt, auch Zunge und Schleimhäute des Maules normal.

2^{15}. Ödematöse Schwellung am Halse wird noch stärker. Der ganze Boden der Mundhöhle erscheint dick sulzig geschwollen, kein Exophthalmus.

3^{00}. Der ganze Boden der Mundhöhle ist noch stärker geschwollen. Zunge auch dick, ödematös, hängt weit aus dem dauernd geöffneten Maule heraus. Kein Exophthalmus.

3^{40}. Schwellungen sind noch größer geworden. Tier wird schwach, kann sich nur schlecht noch aufrecht erhalten.

4^{02}. Exitus.

Sektion: Kein Zeichen einer Methämoglobinvergiftung. Halsschwellung sehr stark. Der ganze Boden des Maules ist hochgehoben und in eine dicke Sulze verwandelt. Zunge stark sulzig geschwollen. Das intraorbitale Gewebe ist geschwollen, hat aber keinen Exophthalmus bewirkt.

Bei dem ersten dieser Katzenversuche hatte die gewöhnliche subcutan gegebene Dosis Paraphenylendiamin es gar nicht zu den beim Kaninchen typischen Ödemen kommen lassen; schon vorher hatten die cerebralen Erscheinungen den Exitus des Tieres bedingt, beim zweiten Versuche war der zehnte Teil der üblichen Dosis per os verabreicht worden; ganz abgesehen davon, ob das Tier beim Brechen etwas Mageninhalt aspirierte oder nicht, es zeigte sich bei dieser kleinen Dosis nach $1^1/_2$ Stunden sulziges Ödem im Kehlkopf und Schwellung der Zunge; beim dritten, wo $^1/_4$ der gewöhnlichen Dosis subcutan einverleibt wurde, traten die so außerordentlich großen Ödeme auf.

Diese starke Reaktion der Katze auf Paraphenylendiamin ließ möglicherweise auch eine energische Wirkung des Orthophenylendiamins bei der Katze erwarten. Folgender Versuch belehrte mich darüber:

Versuch 9.

22. III. 2^{20}. Katze, 3500 g, erhält 1,5 g Orthophenylendiamin in neutraler Lösung subcutan. Keine Tracheotomie.

2^{50}. Sitzt ruhig in der Ecke, leicht narkotisiert.

4^{00}. Tier sitzt unverändert ruhig; jetzt setzt starker Speichelfluß ein.

7^{00} abends. Am Halse und um die Schnauze sind deutliche Schwellungen sichtbar geworden. Kein Exophthalmus, keine Zungenschwellung.

9^{00}. Dasselbe Bild.

23. III. frühmorgens ist das Tier tot.

Sektion: Am Kopf, besonders um die Schnauze herum und am Halse deutlich sulziges Ödem, kein Exophthalmus, keine Zungenschwellung.

Dieser Erfolg mit Orthophenylendiamin bewog mich, auch mit Metaphenylendiamin Katzenversuche anzustellen:

Versuch 10.

Katze, 2300 g, erhält 1,0 g Metaphenylendiamin subcutan ohne Tracheotomie.

12^{45}. Injektion. Bis

2^{00} öfters Niesen und Husten, leichte Narkose.

2^{05}. Salivation beginnt.

2^{55}. Starke Salivation, noch keine Schwellung, Zunge noch im Maule; kein Exophthalmus, Tier sitzt ruhig.

Nachmittags. Weiter starke Salivation und geringe Dyspnoe.

7^{00} abends. Exitus.

Sektion: Lungen lufthaltig; kein Exophthalmus, keine Zungenschwellung, keine Spur Ödeme an Hals oder Kopf. Im Harn kein Eiweiß, kein Zucker.

Bei einer zweiten Katze, der ich nur die halbe Menge gab, verlief die Vergiftung innerhalb 10 Stunden tödlich. Es fand sich hier auch starke Salivation und im Gegensatz zum 1. Versuch Eiweiß im Urin. Ödeme und Schwellungen waren hier aber auch nicht zu sehen. Kein Methämoglobinspektrum, sondern zwei Streifen im Grünen wie bei Oxyhämoglobin.

Ebenso wie bei Katzen, bekam ich bei Kaninchen mit Metaphenylendiamin kein Hals- und Kopfödem, aber ein anderes Phänomen trat ein:

Versuch 11.

Kaninchen, 1900 g, erhält

2^{00} nachmittags 0,7 Metaphenylendiamin, schwach alkalisch, filtriert subcutan. Nachmittags sitzt das Tier ruhig, ohne besondere Erscheinungen. Am anderen Morgen ist es tot.

Bei der Sektion finden sich weder Hals- noch Kopf- oder Zungenödem, wohl aber ist starker Ascites vorhanden.

Diesen Ascites, den ich bei Paraphenylendiamin niemals sah, fand ich auch bei 2 weiteren ähnlichen Kaninchenversuchen mit Metaphenylendiamin.

Es resultiert also aus diesem Vergleiche des Paraphenylendiamins mit seinen beiden Isomeren, daß sich die typischen Kopf- und Halsödeme nicht nach Meta-, wohl aber nach Orthophenylendiamin, und zwar nur bei Katzen, wiederfinden, daß aber nach Metaphenylendiamin Gewebsflüssigkeit in anderer Form, nämlich als Ascites, abgesondert wird.

Ich gehe zu den Versuchen mit Di- und Tetramethyl-p-phenylendiamin über.

Beide Verbindungen sind zu physiologischen Versuchen öfters herangezogen worden. Besonders haben Wurster[1]) und Spitzer[2])

[1]) Wurster, Dubois' Archiv 1887, 179.

[2]) Spitzer, Arch. f. d. ges. Physiol. **60**, 121.

sich mit ihnen beschäftigt und festgestellt, daß die farblosen Lösungen des Dimethyldiamins, des Paraphenylendiamins durch Oxydation leicht in rote und violette, die des Tetramethyl-p-phenylendiamins in eine blauviolette Lösung übergeht. Diese methylierten Paraphenylendiamine werden weder durch Säuren, noch durch Alkalien, noch durch Reduktionsmittel verändert, nur aktiver Sauerstoff verändert die Körper rasch, führt sie in intensiv gefärbte Verbindungen über, aus denen sie durch weitere Oxydation in farblose, nicht mehr farbstoffbildende Produkte übergehen. Wurster hat gezeigt, daß frische, dem eben getöteten Tier entommene Muskeln, auf Tetramethyl-p-phenylendiamin-Papier gebracht, dieses bläuen, daß sie eine Dimethyl-p-phenylendiaminlösung blauschwarz färben, daß diese Erscheinungen jedoch ausbleiben, wenn die Muskeln vorher gekocht werden. Das aus der Ader gelassene Blut färbt ebenfalls das mit der Dimethylparaphenylendiaminlösung getränkte Papier blauschwarz. Wurster zeigte ferner, daß Organe von Tieren, die mit größeren Mengen der erwähnten Farbstoffe vergiftet worden waren, nach der Herausnahme an der Luft rasch verbläuten. Auch den Speichel färbt — mit Essigsäure versetzt — das in ihn gebrachte Di- oder Tetrapapier blau.

Wurster bezog diese Erscheinungen auf vorhandenes Wasserstoffsuperoxyd (H_2O_2) im Körper. Dem widerspricht Spitzer. Er weist zunächst noch auf folgendes hin: Vergiftet man Frösche subcutan mit Dimethylparaphenylendiamin, welches, wie erwähnt, durch aktiven O gebläut wird, und tötet sie, so färben sich die schon leicht an ihren Oberflächen blau gefärbten Muskeln an der atmosphärischen Luft stark blau, während die einer Porzellanplatte etwa aufliegenden Teile des Muskels sich entfärben. Spitzer erklärt sich dieses Verhalten dadurch, daß überall da, wo der atmosphärische Sauerstoff reichlich hinkommt, die reduzierenden Substanzen ihren Sauerstoff entweder aus dem molekularen der Atmosphäre entnehmen oder aber bei ihrem Bestreben, die Oxydationsfärbungen zu verhindern, gegen die mit immer frischem atmosphärischen Sauerstoff (Massenwirkung) unter günstigsten Bedingungen arbeitenden Sauerstofferreger nicht aufkommen können.

Bei O-Mangel vermögen die sauerstofferregenden Substanzen keine Oxydationsfärbungen zu erzielen, während die reduzierenden Substanzen den gefärbten Verbindungen den Sauerstoff entziehen und sie in die Leukoverbindungen überführen.

Die schon früher so zahlreich ausgeführten Versuche mit diesen Methylderivaten machten weitere unnötig. Ich ging deshalb gleich auf mein Hauptziel los, zu prüfen, ob bei diesen methylierten Verbindungen am Kaninchen die Ödeme des Paraphenylendiamins auftreten.

Versuch 12.

Kaninchen, 1700 g, erhält

12^{35}. 0,25 g Dimethylparaphenylendiamin (schwach alkalisch) subcutan.

12^{50}. Krampfartige Zuckungen an Armen und Beinen.

12^{55}. Stärkere Krämpfe, stark beschleunigtes, oberflächliches Atmen.

1^{00}. Opistotonus, starke Krämpfe und Atembeschleunigung gehen weiter.

1^{05}. Trismus, Opistotonus, Exitus.

Sektion: Keinerlei Ödeme, kein Exophthalmus, Zunge normal. Lungen, Magen, Darm o. B. Starke hämorrhagische Nephritis (Blutungen in Rinde und Parenchym).

Versuch 13.

23. I. Kaninchen, 1700 g, Temperatur 38,9°, Atmung 120, erhält

11^{40} 0,02 g Dimethylparaphenylendiamin subcutan.

12^{30}. Bis jetzt normal, jetzt wird Atmung etwas beschleunigt.

12^{35}. Atmung stark beschleunigt, sonst nichts Auffallendes. 180.

12^{40}. Schwere Dyspnoe.

1^{10}. Atmung noch stark beschleunigt (160 bis 180).

1^{30}. Atmung ruhiger.

2^{00}. Tier sitzt und atmet ruhig.

2^{30}. Hat sich sichtlich erholt, putzt sich.

24. 1. Temperatur 38,8°, Tier sitzt ruhig, Atmung 100. Keine Ödeme.

10^{20}. Erhält **0,04 g** Dimethylparaphenylendiamin subcutan.

11^{10}. Bis jetzt alles normal; jetzt Atmung etwas beschleunigt.

11^{20}. Atmung wieder ganz ruhig. Tier zeigt keine Besonderheiten.

2^{35}. Tier ganz normal, frißt; hat heute die doppelte Menge gut vertragen.

25. I. Temperatur 39,1°. Atmung 60, im Urin kein Eiweiß, kein Zucker, erhält

10^{05} **0,1 g** Dimethylparaphenylendiamin subcutan.

10^{15}. Atmung 110 bis 120.

10^{23}. Tier liegt platt auf dem Bauche, Schnauze auf den Boden gesenkt.

10^{28}. Temperatur 38,1°, große Schwäche.

10^{32}. Kann sich nicht mehr erheben.

10^{36}. Tier liegt auf der Seite. Atmung 72°. Temperatur 37,5°.

10^{40}. Plötzlich Krämpfe. Opistotonus. Exitus.

Sektion: Die Gegend des Unterhautzellgewebes am Bauche, wo die Injektionen gemacht wurden, ist sulzig ödematös. Hals- und Kopfödeme nicht vorhanden. Kein Exophthalmus, keine Zungenschwellung. Lunge, Magen, Darm, Leber o. B. Nieren: hämorrhagische Nephritis, Blutspektrum zeigt reinen Oxyphämoglobinstreifen.

Versuch 14.

Kaninchen, 1700 g, Atmung 60—70, Temperatur 39,3°, erhält

10^{50} 0,7 g Dimethylparaphenylendiamin per os.

11^{20}. Bis jetzt unverändert.

11^{25}. Beschleunigte Atmung (140); Zittern des Kopfes.

11^{27}. Temperatur 38,2°, Atmung jagend.

11^{32}. Immer noch sehr schnelle Atmung, Kopf sinkt nach vorn.

11^{40}. Krampfzuckungen über den ganzen Körper wechseln mit ruhigen Augenblicken.

11^{45}. Dauerndes Zucken und Zittern des Kopfes. Salivation.

11^{50}. Laufkrämpfe.

11^{54}. Nach einigen ruhigen Minuten jetzt dauernde Kaubewegungen und Wackeln mit den Ohren.

11^{56}. Großer Krampfanfall, Opistotonus; Tier fällt auf eine Seite, kann sich nicht wieder erheben. Atmung 180 bis 200.

11^{59}. Im Liegen fortwährendes Zucken der Beine.

12^{02}. Erneuter Krampfanfall im Liegen, Atmung 160 bis 180, Trismus.

12^{10}. Krampfartiges Zucken im Liegen.

12^{20}. Exitus.

Sektion: Keinerlei Schwellungen, kein Exophthalmus, keine Zungenvergrößerung. Auch sonst an den Organen nichts Auffallendes. Keine Nephritis.

Versuch 15.

Kaninchen 1600 g, Temperatur 38,7°, erhält

11^{25} 0,5 g Tetraphenylendiamin in amphoterer Lösung per os.

11^{50}. Tier sitzt noch ruhig; keine besonderen Erscheinungen.

11^{55}. Kann sich scheinbar nicht mehr gut auf den Beinen halten; liegt platt auf dem Bauche. Atmung ruhig.

12^{10}. Temperatur 37,9°.

3^{20} nachmittags. Tier lag bis jetzt meist halbschlafend mit ruhiger Atmung.

3^{22}. Plötzlich Krämpfe der ganzen Körpermuskulatur.

3^{50}. Ruhe.

Im Laufe des Abends bis 8^{00} noch 2 Krampfanfälle. Über Nacht Exitus.

Sektion: Keinerlei Schwellungen oder Ödeme. Dünndarmgefäße leicht injiziert.

Versuche mit der halben und der viertel Menge der beim Paraphenylen gegebenen Dosis fielen ebenso aus; die Tiere starben unter cerebralen Erscheinungen, ohne daß sich die geringste Spur eines Hals-, Kopf- oder Zungenödems gezeigt hätte. Als ich ungefähr auf den achten Teil herunterging, kam ich an die Grenze der toxischen Dosis, wie folgender Versuch zeigt:

Versuch 16.

24. I. Kaninchen, 1500 g, Atmung (in der Sonne) 100 bis 120, Temperatur 38,9°, erhält

9^{15} 0,02 g Tetramethylparaphenylendiamin subcutan.

9^{25}. Unverändert.

9^{35}. Temperatur 37,9°, Atmung 140 bis 150, ist sehr unruhig.

10[15]. Tier sitzt wieder ruhig. Atmung 120.

12[00]. Keine Besonderheiten.

1[00]. Temperatur 37,2°. Atmung nicht beschleunigt.

2[30]. Tier ist ruhig, frißt jetzt.

25. I. Temperatur 38,6°. Im Harn Eiweiß + Trübung, Zucker —. Atmung 48 pro Minute.

9[50]. 0,05 g Tetramethyl-p-phenylendiamin subcutan.

10[14]. Atmung 120; Tier ist unruhig, läuft hin und her.

10[25]. Atmung 180 bis 200, jetzt sehr große Unruhe, ständiges Zittern mit dem Kopfe, sichtbare Dyspnoe.

10[32]. Temperatur 37,8°, starke Dyspnoe und heftiges Kopfzittern.

10[36]. Tier wird schwach, fällt um und steht wieder auf; Atmung 140 bis 150.

10[45]. Zuckungen und Zittern des Kopfes besteht weiter; Salivation setzt ein, Tier macht dauernde Kaubewegungen.

10[53]. Hält sich mühsam aufrecht, kaut immer noch sehr lebhaft und zittert mit dem Kopfe; übrige Körpermuskulatur noch ruhig.

11[20]. Tier fällt um, bleibt liegen, kann sich nicht wieder erheben; zitternde und zuckende Krampfbewegungen jetzt am ganzen Körper; schwere Dyspnoe.

11[40]. Atmung jetzt erschwert, geringes Zucken in den Beinen.

11[50]. Exitus.

Sektion: Sulzige Schwellung am Bauche in der Nähe der Injektionsstellen. Am Kopf, Hals und an der Zunge keinerlei Schwellung, keine Spur Ödeme. Nieren: Grenzzone stark verfärbt und entzündet. Im Harn E ++, Zucker —. Im Spektrum zeigt das Blut die Oxyhämoglobinstreifen. Blut gerinnt gut.

Bei den Dimethyl- und Tetramethylverbindungen liegen die Verhältnisse umgekehrt wie bei Ortho- und Metaphenylendiamin. Bei den Isomeren reichten die gewöhnlichen Dosen am Kaninchen nicht aus, um eine tödliche Vergiftung zu erzielen; man mußte deshalb die viel empfindlicheren Katzen zu Hilfe nehmen. Bei den methylierten Verbindungen töten schon sehr kleine Dosen, und bei ihnen allen wie selbst bei der Grenzdosis bleiben die Ödeme aus. Es bedurfte hierbei keiner weiteren Katzenversuche, da die Kaninchen selbst schon sehr empfindlich reagierten, und es läßt sich wohl durch die obigen Beispiele als sicher annehmen, daß die typischen Ödeme des Paraphenylendiamins bei seinen methylierten Verbindungen im Kaninchenversuch nicht auftreten.

Anders wie die Methylderivate verhielt sich das mir zur Verfügung stehende Diäthylpräparat.

Versuch 17.

16. II. Kaninchen, 1700 g, Atmung 60 bis 70, Temperatur 39,1°, erhält 0,2 g Diäthyl-p-phenylendiamin.

11^{00}. Schwach alkalisch gemacht per os.

11^{45}. Tier normal, zeigt gar keine Veränderungen.

12^{00}. Unverändert, Tier frißt.

17. II. Atmung und Temperatur wie gestern früh. Harn ganz schwarz gefärbt.

10^{05}. Erhält 0,8 g Diäthyl-p-phenylendiamin per os.

11^{00}. Keine besonderen Erscheinungen.

12^{00}. Sitzt ruhig, Atmung 60 bis 70.

3^{00} nachmittags. Schwere Dyspnoe, Schwellung des Kopfes und Halses deutlich.

4^{00}. Ödeme am Hals und Kopf sind sehr stark geworden. Temperatur 36,8°.

Abends gegen 10^{30} Exitus.

Sektion: Sehr stark sulziges Ödem am Kopf und Hals, geringer Exophthalmus. Zunge geschwollen, steht zwischen den Zähnen. Harn ganz schwarz.

Bei doppelter Dosis ließen sich also mit Diäthyl-p-phenylendiamin die gleichen Erscheinungen erzielen, die dem reinen Paraphenylendiamin das typische Gepräge geben.

Ein ganz ähnliches Resultat erhielt ich von Monacetyl-p-phenylendiamin.

Versuch 18.

Kaninchen, 1400 g, Atmung 60 bis 70, Temperatur 39,1°.

10^{15}. Erhält 0,4 g Monacetyl-p-phenylendiamin per os.

10^{30}. Unruhig; Atmung 84.

10^{50}. Starke Dyspnoe.

11^{15}. Atmung sehr erschwert, 36, Temperatur 38,3°.

11^{25}. Deutliche Schwellung am Halse, Salivation.

11^{30}. Schwellung und Dyspnoe nehmen zu. Atmung 30 pro Minute; Zunge zwischen den Zähnen; sehr starke Schwellung am Halse.

12^{05}. Hals sehr stark geschwollen, deutliche Schwellung um die Schnauze. Zunge geschwollen aus dem Maule.

Zwei weitere Versuche mit dem unlöslichen Diacetyl-p-phenylendiamin und dem schwer löslichen Äthoxy-p-phenylendiamin verliefen negativ. Die Tiere blieben ohne jede Störung, fraßen und waren dauernd munter.

Den Phenylendiaminen versuchte ich weiter zwei Diphenylamine gegenüberzustellen und zwar das 4-Amido-2′-4′-diamido-diphenylenamin und dessen Sulfosäure. Die letzte ging

wirkungslos durch den Körper, wie viele andere Sulfosäuren; bei dem erstgenannten Diphenylamin fand ich folgendes:

Versuch 19.

9. III. Kaninchen, 1500 g, Temperatur 39,1°, Atmung 50 bis 60, erhält subcutan 0,1 g 4 Amido-2'-4'-diamido-diphenylamin in NaCl gelöst. Tier blieb ganz normal.

12. III. 3 Tage später, früh 10^{00} bekommt es 0,25 g desselben Präparats subcutan.

10^{10}. Tonische Krämpfe setzen ein.
10^{15}. Dauernd krampfartige Bewegungen der Füße.
10^{16}. Tier fällt um, kann sich nicht mehr erheben.
10^{17}. Opisthotonus.
10^{28}. Exitus.

Sektion: Keine Hals- und Kopfödeme, an der Injektionsstelle etwas ödematöse Schwellung. Magenschleimhaut weiß geätzt, aber ohne Blutung. Grenzzone der Nieren zeigt stark dunkelrote Färbung. Im Harn kein Eiweiß.

Ein zweiter Versuch verlief mit noch geringeren Mengen der Substanz ähnlich:

Versuch 20.

Kaninchen, 1500 g, Temperatur 38,7°, Atmung 72, erhält
11^{23} 0,1 g 4 Amido-2'-4'-diamido-diphenylenamin subcutan.
11^{40}. Tier sitzt ruhig, Atmung 108.
11^{08}. Bis jetzt Tier ruhig, Atmung 108.
12^{10}. Ganz plötzlich schwerste Laufkrämpfe.
12^{11}. Trismus, Opisthotonus.
12^{17}. Liegt auf der Seite, tonische Krämpfe.
12^{23}. Außer Krampfzittern jetzt noch schwere Dyspnoe.
12^{33}. Dieselbe Seitenlage, immer noch kleine Krampfanfälle. Atmung 96.
12^{50}. Tier liegt ruhiger; leichter Trismus besteht noch
1^{10}. Temperatur 35,3°, Atmung 96, leichter Trismus.
1^{15}. Leichte Krämpfe am ganzen Körper setzen von neuem ein.
1^{40}. Bis jetzt leichte Krämpfe, jetzt liegt Tier ruhig.
1^{43}. Versucht sich aufzurichten.
2^{00}. Hat sich aufgesetzt, schläft.
2^{35}. Sitzt noch mit geschlossenen Augen; zittert ein wenig am Körper.
3^{00}. Versucht aufzustehen, es gelingt nicht. Zitterbewegungen werden heftiger. Kopf gerät jetzt auch in zitternde Bewegung. Temperatur 30,6°!
3^{04}. Kurzer Krampfanfall, Tier legt sich hin.
3^{10}. Wird in den Heizschrank gebracht.
3^{30}. Sitzt wieder aufrecht, verhält sich ruhig.

4^{30}. Temperatur 33,2°.
6^{20}. Temperatur 34,5°.
7^{12}. Krampfanfall.
Nachts. Exitus.
Sektion: Ödem überall am Bauche bis in die Achselhöhlen. Am Kopf, Hals und Zunge keine Schwellung. Magen: Starke Blutungen und entzündliche Herde. Dünndarm: Blutungen. Nieren: Schwere hämorrhagische Nephritis. Im Harn Eiweiß stark positiv.

Dieses Diphenylamin muß man wohl vor allem als Nieren- und Krampfgift ansprechen. Auffallend war, daß am Bauche ein so ausgebreitetes sulziges Ödem nach der einen Injektion sich bildete. Ich will erwähnen, daß dieses das einzige Präparat war, das ich ein wenig sauer injizieren mußte. Es fiel beim Neutralisieren sofort aus.

Nun ging ich in meiner Versuchsreihe von den aromatischen Diamino- zu den Triaminokörpern über und prüfte a) Triaminobenzol, b) Triaminotoluol, c) Triaminophenol und d) Triaminoazobenzol.

Triamidobenzol löst sich nur schwer in Wasser. Die violette Lösung reagiert stark sauer. Bei alkalischer Reaktion Umschlag in Braun. 0,1 g Triamidobenzol braucht ungefähr 7 ccm Normalnatronlauge zur Neutralisation. Die filtrierte Lösung sieht ölig aus.

Triamidotoluol löst sich mäßig gut in H_2O, reagiert auch sauer; in alkalischer Lösung fällt viel feste Substanz aus. Die schwach saure filtrierte Lösung ist klar, von brauner Farbe.

Triamidophenol löst sich fast gar nicht in Wasser; ich habe es mit Gummi in Wasser angerieben und mittels Schlundsonde gegeben.

Froschversuche mit Triamidobenzol und Triamidotoluol zeigten bei Dosen von 0,4 mg pro Gramm Tier allgemeine Lähmungen, Verfärbungen der Leber und Herzstillstand in Systole; Exitus nach 2 bis 4 Stunden. Nach Triamidophenol (0,6 mg pro Gramm Tier) trat Herzstillstand in Diastole nach $1^1/_2$ Stunden ein. Im Leib war ziemlich viel Flüssigkeit ausgeschieden. Phenolzuckungen wurden nicht beobachtet. Die Kaninchen zeigten bei diesen 3 Triaminokörpern keinerlei besondere Erscheinungen, selbst nicht nach der dreifachen, von mir bei paraphenylendiaminvergifteten Tieren gegebenen Dosis.

Ein Katzenversuch mit Triaminobenzol endete bei subcutaner Injektion von 0,4 g auf 1800 g Tier nach 2 Stunden tödlich unter deutlicher Bildung von Methämoglobin, ein Katzen-

versuch mit Triamidotoluol zeigte nach starken Lähmungserscheinungen ebenfalls schwere Methämoglobinvergiftung.

Die mitgeteilten Versuche ergaben also, zusammengefaßt, folgendes:

Ortho- und Metaphenylendiamin wurden von Fröschen im Gegensatz zur Paraverbindung in großen Mengen ohne besondere Wirkung gut vertragen, Orthophenylendiamin außerdem ohne jede Beeinflussung auch von Kaninchen. Katzen bekamen jedoch nach Orthophenylendiamin die für die Para-Verbindung typischen Ödeme an Hals und Kopf.

Nach Metaphenylendiamin trat bei Katzen starke Salivation und heftiges Niesen auf; Ödeme blieben aus. Kaninchen zeigten nach der Meta-Verbindung ebenfalls keine Ödeme, dagegen regelmäßig Ascites.

Eine gewisse Ähnlichkeit hinsichtlich der Ausscheidung pathologischer Flüssigkeit ist also bei den drei Isomeren vorhanden:

Sehr starkes Kopf-Halsödem des Kaninchens bei der Paraverbindg.
Deutliches „ „ der Katze „ „ Ortho- „
Starker Ascites des Kaninchens „ „ Meta- „

Die methylierten Derivate bewirkten cerebrale Erscheinungen und Exitus schon nach sehr kleinen Dosen. Ödeme an Kopf und Hals bildeten sich nicht.

Deutlich traten die sulzigen Schwellungen an Kopf und Hals dagegen nach dem Diäthyl- und dem Monacethyl-Derivat auf.

Das unlösliche Diacetyl- und Äthoxy-p-Phenylendiamin gingen reaktionslos durch den Tierkörper.

Triamino-benzol, -toluol und -phenol bildeten die Ödeme nicht, sie riefen aber bei Katzen Methämoglobinurie hervor.

Eine Mikromethode der Acetonbestimmung.

Von

M. Richter-Quittner.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des k. k. Kaiserin-Elisabeth-Spitals in Wien.)

(*Eingegangen am 16. Oktober 1918.*)

Mit 2 Figuren im Text.

Das Aceton wird heute vielfach nach der Methode von Embden-Schmitz bestimmt, die eine Vereinfachung der altbewährten Methode von Messinger-Huppert darstellt und für klinische Zwecke brauchbare Resultate liefert. Bei Anwendung von 20 ccm Harn werden aber 30 ccm einer $33^0/_0$igen Natronlauge gebraucht. In Anbetracht des jetzigen Laugenmangels habe ich auf Veranlassung des Chefs des hiesigen Laboratoriums Prof. Dr. W. Falta eine Mikroacetonbestimmungsmethode ausgearbeitet, die es gestattet, mit 1 bis 2 ccm Harn, also mit 1,5 bis 3 ccm Lauge auszukommen.

I.

Verschiedene Arten der Destillation.

Bevor ich auf die Beschreibung dieser Methode eingehe, möchte ich vorerst eine Versuchsreihe erwähnen, die ich zu dem Zwecke ausgeführt habe, um mir ein Bild zu machen, welche Art der Destillation am geeignetsten ist.

Es liegen nämlich in der Literatur die widersprechendsten Urteile vor. So einfach eine quantitative Acetonbestimmung in reinen Lösungen ist, so schwierig gestaltet sich eine Acetonbestimmung im Harn, wo die Anwesenheit von Phenol, Ammoniak, salpetriger Säure, Ameisensäure und Äthylalkohol sehr störend wirken. Das Phenol gibt bekanntlich mit Jod Trijodphenol, aus welchem das Jod mit Thiosulfat nicht ge-

bunden wird. Bei der Destillation mit schwacher Essigsäure geht unvermeidlich Ammoniak in das Destillat über, das mit Jod Stickstofftrijodid geben kann. Die Ameisensäure wird unter Bildung von Jodwasserstoffsäure oxydiert, so daß es abermals zu einem Verlust an Jod kommt. Diese Fehler werden etwas durch vorhandene salpetrige Säure kompensiert, die aus dem Kaliumjodid Jod frei macht. Äthylalkohol wird als Aceton mitbestimmt, so daß man zu hohe Werte erhält. Diesen Übelständen versuchen nun die verschiedenen Autoren in verschiedener Weise Herr zu werden. I. Messinger destilliert zunächst unter Zusatz von 2 ccm 50%iger Essigsäure auf 100 ccm Harn, damit kein Phenol übergehe, und dann ein zweitesmal mit 1 ccm verdünnter Schwefelsäure, um das Ammoniak zurückzuhalten. Embden und Schmitz destillieren nur einmal mit verdünnter Essigsäure, indem sie den Harn sehr stark verdünnen und geben an, zugesetztes Aceton bis zu 100% wiederzufinden.

Geelmuyden destilliert nur einmal unter Zusatz von Schwefelsäure. Merk destilliert nur einmal bei alkalischer Reaktion im Vakuum. Nach Späth wird mit Pottasche übersättigt und bei 50 bis 60° im Vakuum abdestilliert.

Meine eigenen Versuche habe ich in Tabelle I und II zusammengestellt. Nach meiner Erfahrung ist ein zweimaliges Destillieren unbedingt notwendig und die Vorschrift von

Tabelle I.

Mikroacetonbestimmung im diabet. Harn bei verschiedenem Destillationsmodus.

Autor	Methodik	Angewandte Harnmenge ccm	Diabet.-Harn I. Aceton %	Diabet.-Harn II. Aceton %
Embden-Schmitz	1 mal destilliert mit 2 ccm 50% Essigsäure	20	1,078 1,074	0,423 0,413
Messinger-Huppert	2 mal destilliert 1. mit Essigsäure 2. „ H_2SO_4	50	1,000 1,000	0,400 0,392
Geelmuyden	1 mal destilliert unter Zusatz von H_2SO_4	20	1,168 1,154	0,506 0,509
Merk	Vakuumdestillation bei alkal. Reaktion	50	1,005 1,014	0,493 0,486
Eigener Versuch	2 mal destilliert 1. Wasserdampf 2. frakt. Destill.	5	1,000 1,004	0,402 0,409

Tabelle II.

Aceton in gewöhnl. Harn unter Zusatz einer 1,002 %igen Acetonlösung bei verschiedenem Destillationsmodus.

Autor	Methodik	Harnmenge ccm	Aceton-lösung ccm	Aceton gef.
Embden-Schmitz	1 mal destilliert unter Zusatz von 50 % Essigsäure	25	25	0,5073 0,5100
Messinger-Huppert	2 mal destilliert 1. mit Essigsäure 2. „ H_2SO_4	25	25	0,5081 0,5080
Geelmuyden	2 mal destilliert mit verdünnter H_2SO_4	25	25	0,5100 0,5104
Merk	Vakuumdestillation bei alkal. Reaktion	25	25	0,5078 0,5056
Eigener Versuch	2 mal destilliert 1. Wasserdampf 2. frakt. Destill.	10	10	0,5000 0,5000

Messinger und Huppert sehr gut verwendbar. Die Methode von Geelmuyden ist bei Anwesenheit von Zucker unbrauchbar. Das Verfahren von Embden und Schmitz liefert, wie bekannt, zu hohe Werte. Eine Vakuumdestillation halte ich im Mikroapparat für zu kompliziert, und da diese Apparate sehr gebrechlich, für viel zu kostspielig.

Ich destilliere zweimal und zwar das erstemal mit Wasserdampf unter Zusatz von verdünnter Essigsäure, das zweitemal mit verdünnter Schwefelsäure fraktioniert. Die Wasserdampfdestillation hat zwei Vorteile:

1. werden durch den Wasserdampf die kleinsten Acetonmengen mitgerissen, so daß sicher jeder Substanzverlust ausgeschlossen ist;

2. wird eine zu große Konzentration des Harnes vermieden, die ja bekanntlich sehr schädlich ist. Die fraktionierte Destillation halte ich im Harn (nicht im Blut) für notwendig, um das Aceton (Siedepunkt 56,3) vom Äthylalkohol (Siedepunkt 78) zu trennen, der bei der Methode von Messinger und Huppert als Aceton mitbestimmt wird.

II.

Mikroacetonbestimmung im Harn.

1 ccm Harn wird mit der Präzisionsauswasch-Mikropipette nach Pregl in das Kölbchen *B* von 100 ccm Fassungsraum (Figur 1) gemessen und die Pipette 5mal mit destilliertem Wasser nachgespült. In Ermanglung dieser Pipette kann man sich in der Weise helfen, daß man mit einer geeichten

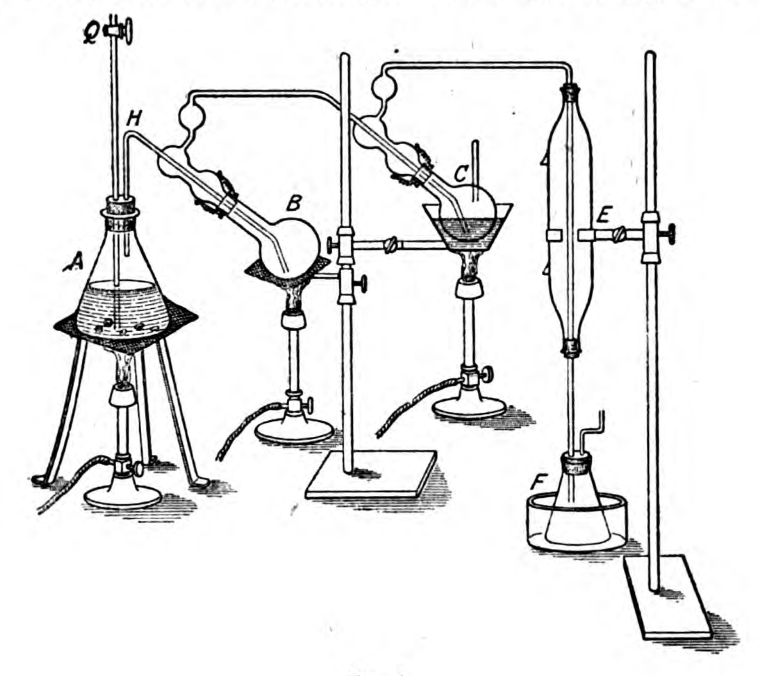


Fig. 1.

Pipette 10 ccm Harn in einen 100-ccm-Meßkolben füllt, bis zur Marke auffüllt, gut mischt und von dieser Lösung 10 ccm abpipettiert. Es ist darauf zu achten, daß der 24stündige Urin sehr gut gemischt ist, da ich mich aus eigener Erfahrung überzeugen konnte, daß gerade die Nichtbeachtung dieses Punktes Fehler bis zu 15% ausmachen kann. Der Harn wird mit 10 ccm Wasser verdünnt und 1 ccm 50%iger Essigsäure zugesetzt. Das Kölbchen *B* wird einerseits mit dem Dampfentwickler *A*, andererseits mit dem Fraktionier-Kölbchen *C* verbunden. Es empfiehlt sich, bei dem Dampfentwickler

ein Sicherheitsrohr anzuwenden und etwas pulverisierten Bimsstein als Siedeverzug hinzuzufügen. Nachdem das Wasser in *A* siedet, wird auch *B* vorsichtig erwärmt. Es ist darauf zu achten, keinen starken Wasserdampfstrom durch den Apparat zu schicken. Mit Hilfe der am Sicherheitsrohr angebrachten Klemmschraube *a* läßt sich die Dampfzufuhr sehr gut regulieren. Nach 10 Minuten ist die Dampfdestillation beendet, man öffnet bei *H* und dreht erst dann den Brenner 1 ab. Man fügt in das Kölbchen *C* 1 ccm Schwefelsäure und destilliert abermals mit Babotrichter und eingesetztem Thermometer bis zu 70°. Die Vorlage, die mit destilliertem Wasser beschickt ist, wird mit Eis gekühlt. Alle Kölbchen, inklusive Vorlage, besitzen einen sehr guten Glasschliff. Es erweist sich als zweckmäßig, alle Glasschliffe vor Gebrauch etwas mit Vaselin einzufetten, um ein Einwachsen derselben zu vermeiden. Die Anwendung von Glasschliffen an Stelle von Gummistöpseln halte ich für unbedingt notwendig. Ich glaube, daß dies der einzige Grund ist, warum nach der Angabe vieler Autoren bei der Vorschrift von Messinger und Huppert Substanzverluste unvermeidlich sind. Tabelle III gibt die Acetonwerte im Harn eines Normalen bei verschiedener Ernährung wieder. In Anbetracht der kleinen Acetonmengen ist es mir nicht gelungen, in denselben Harnen das Aceton nach der Methode von Messinger und Huppert zu bestimmen. Die Versuche sind mit 3 ccm

Tabelle III.

24stündige Acetonausscheidung des Normalen bei verschiedener Kost.

Nr.	Kost	Harnmenge	N in g	Aceton in mg
1	Gemischte Kost	1150	15,79 15,70	5,68 5,09
2	Fleisch-Gemüse	840	21,80 21,86	14,98 14,79
3	Fleisch-Gemüse	970	22,41 22,38	15,72 15,84
4	Amylaceen-Gemüse	1040	10,24 10,24	4,38 4,59

Harn ausgeführt. Die Stickstoffbestimmungen sollen den häufigen Parallelismus zwischen N und Acetonausscheidung demonstrieren, der, wie schon von H. Scott Wilson angegeben wurde, auch bei normalen Individuen beobachtet wird.

Die Bestimmungen der Tabelle IV sollen ein Bild geben über die Empfindlichkeit und Leistungsfähigkeit der Methode.

Tabelle IV.

Mikroacetonbestimmungen bei verschiedenen Konzentrationen.

Nr.	Bezeichnung	Verdünnung	ang. Menge ccm	Apparat	Aceton in mg %
1	Standardlösung	—	25	Fig. 1	10,05 10,91
2	dgl.	2fach	25	Fig. 2	5,00 5,00
3	dgl.	10fach	30	Fig. 2	1,00 1,05
4	dgl.	100fach	30	Fig. 2	0,10 0,11
5	dgl.	200fach	25	Fig. 2	?
6	Aceton in Harn gelöst	—	25	Fig. 1	10,83 10,89
7	dgl.	2fach	25	Fig. 1	5,47 5,40
8	dgl.	10fach	25	Fig. 1	1,09 1,09
9	dgl.	100fach	25	Fig. 2	0,11 0,12
10	dgl.	200fach	25	Fig. 2	?

Es lassen sich 0,1 mg Aceton in 100 ccm noch sicher bestimmen. Die angewendete Blut- oder Harnmenge soll nicht weniger als 0,04 mg Aceton enthalten.

III.

Acetonbestimmung im Blut.

Die Acetonbestimmung im Blut unter Anwendung von 10 bis 100 ccm Blut oder Plasma gestaltet sich ganz analog,

nur daß ich hier dem Apparat Fig. 2 den Vorzug gebe. Es ist nicht notwendig, das zweitemal fraktioniert zu destillieren, da sich im Blut keine nachweisbaren Mengen Äthylalkohol be-

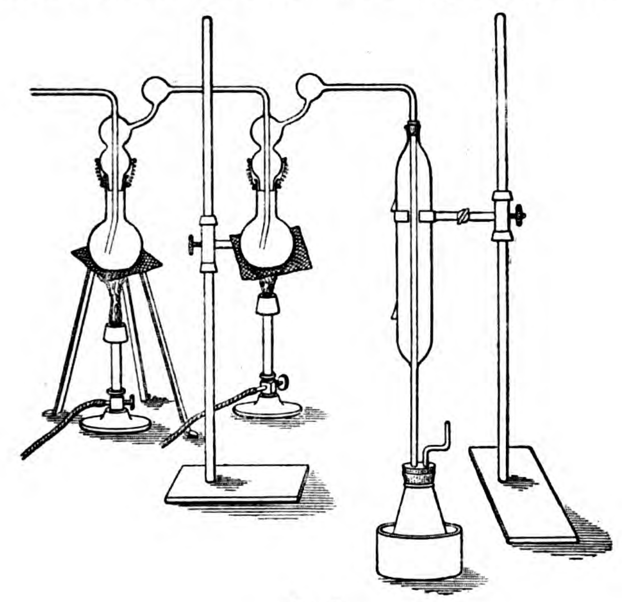


Fig. 2.

finden. An Stelle der Wasserdampfdestillation eignet sich Durchblasen von Luft während des Erhitzens. In diesem Falle wird das Kölbchen *B* statt mit dem Dampfentwickler mit einer Rotationsluftpumpe verbunden.

Tabelle V.
Mikroacetonbestimmung im Pferdeblut bei Zusatz verschiedener Acetonlösungen.

Nr.	Pferdeblut ccm	Acetonlösung	Gefundener Aceton in Gramm auf 100 ccm
1	20	20 ccm einer 0,0672 %igen	0,0340 0,0338
2	10	10 ccm einer 0,0672 %igen	0,0339 0,0335
3	30	30 ccm einer 0,0102 %igen	0,0054 0,0050
4	20	20 ccm einer 0,0102 %igen	0,0050 0,0056

In Tabelle V habe ich Versuche mit Pferdeblut zusammengestellt, denen ich eine vorher genau bestimmte Acetonlösung zugesetzt habe. Es ist nicht notwendig, das Blut vor der Bestimmung zu enteiweißen.

Bei Acetonbestimmungen im Blut ist an Stelle der Wasserdampfdestillation Durchblasen von Luft aus folgenden Gründen vorzuziehen:

1. Da die Konzentration des Acetons im Blut bedeutend geringer als im Harn ist, muß zur Bestimmung eine viel größere Menge angewendet werden, so daß für die Wasserdampfdestillation viel größere Kölbchen in Anwendung kommen müssen, während man bei meiner Anordnung in demselben Apparat Harn und Blutbestimmungen ausführen kann.

2. Kommt es bei der Wasserdampfdestillation im Blut immer zu einem Aufschäumen, so daß ein Überspritzen des Blutes von *B* nach *C* möglich wäre.

IV.

Titration.

Nach beendeter Destillation wird Kölbchen *F* mit dem zupassenden, eingeschliffenen Glasstöpsel sofort geschlossen. Für die Titration eignen sich Glashahnbüretten von 10 ccm Fassungsraum, die in Fünfzigstel Kubikzentimeter geteilt sind. Es werden 10 ccm $^{n}/_{100}$-Jodlösung zugesetzt und mit $^{n}/_{100}$-Natriumthiosulfat in gewöhnlicher Weise mit $1\,^{0}/_{0}$iger Stärkelösung als Indicator titriert. Die Natriumthiosulfatlösung ist unverändert haltbar, wenn man sie mit CO_2-freiem Wasser bereitet und in dunklen Flaschen mit angesetztem Natronkalkrohr aufbewahrt.

Ich bin mir vollkommen bewußt, mit dieser Methode nichts Originelles geschaffen zu haben, da ich mich an die Mikro-Kjeldahlbestimmung von Pregl anlehne. Ich halte aber meine Versuchsresultate insofern für mitteilenswert, als es meines Wissens überhaupt keine brauchbare Acetonbestimmung im Blut gibt, und da diese Mikromethode eine sehr große Laugenersparnis bedeutet. Bei großer Sorgfalt und einiger Übung bedeutet diese Methode auch einen Zeitgewinn. Kontrollanalysen sind selbstverständlich unerläßlich.

Die oben beschriebenen Apparate eignen sich auch für die Mikromethode der β-Oxybuttersäure in Blut und Harn. Derartige Versuche sind im Gange.

Literatur.

Embden-Schmitz, Neubauer-Huppert, Analyse d. Harnes **1**, **259**, 1910.

Huppert-Messinger, Neubauer-Huppert, Analyse d. Harnes **1**, **245**, 1910.

E. Lenk, diese Ztschr. 224, 1917.

Merk, Pharm. Ztschr. **50**, 1905.

F. Pregl, Die quant. org. Mikroanalyse **1917**, 109.

H. Scott-Wilson, Journ. of Phys. 42, 444, 1911.

Über Fehlerquellen der Ninhydrinreaktion nach Enteiweißung in saurer Lösung.

Von

R. Koritschoner und O. Morgenstern.

(Aus dem pathologisch-anatomischen und bakteriologischen Institut der k. k. Krankenanstalt Rudolfsstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1918.)

Vor einiger Zeit beobachtete der eine von uns in Gemeinschaft mit G. Kaminer[1]), daß sich bei der Einwirkung von Menschenserum auf Kalbsthymus Körper, die positive Ninhydrinreaktion zu geben befähigt sind, auch dann noch nachweisen ließen, wenn das Serum 6- bis 9fach durch physiologische Kochsalzlösung, verdünnt mit der Thymussubstanz, zur Reaktion gebracht wurde. Diese Versuche wurden nach der von E. Freund und G. Kaminer angegebenen Modifikation der Abderhaldenschen Reaktion ausgeführt[2]). Es wurden je 2 ccm des Serums oder seiner entsprechend bereiteten Verdünnungen mit einem „ninhydrinfrei" gekochten erbsengroßen Stück Kalbsthymus in Eprouvetten mit Toluol überschichtet, durch 18 Stunden bei 37^0 gehalten, hierauf mit 4 ccm einer 5$^0/_0$igen wäßrigen Na_2SO_4-(kryst.) Lösung und 2 Tropfen einer 5$^0/_0$igen wäßrigen Essigsäure[3]) versetzt und dann zur Koagulation des Eiweißes durch 15 Minuten im siedenden Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit 8 ccm Wasser

---

[1]) Diese Zeitschr. 84, 328, 1917.

[2]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte. 85. Versammlung. Wien. 2. Teil, 2. Hälfte, S. 474, 1914.

[3]) Bei den unter [1]) zitierten Versuchen wurde statt 5$^0/_0$ige Essigsäure versehentlich eine Lösung von 30 g Eisessig + 100 g Natriumacetat in 1000 g Wasser verwendet.

verdünnt und durch trockene Papierfilter filtriert. Das Filtrat wurde hierauf zum Sieden erhitzt, um zu prüfen, ob eine vollständige Eiweißfällung erzielt war. Wenn hierbei keine Trübung eintrat, wurden 2 ccm des Filtrates in einer weiten Eprouvette mit 2 Tropfen einer 0,2 ‰igen wäßrigen Ninhydrinlösung durch 1 Minute im Sieden gehalten. Die Intensität der entstehenden Färbung wurde durch Kreuzchen bezeichnet.

Bei 6 Leichenblutproben, die auf diese Weise untersucht wurden, war die Ninhydrinreaktion noch in den Filtraten des 6- bis 9fach verdünnten Serums positiv, während bei einer Blutprobe, die durch Venaepunktion von einem Fall von Thymuspersistenz erhalten wurde, schon das Filtrat des 2fach verdünnten Serums negative Ninhydrinreaktion gab.

Diese auffallende Beobachtung veranlaßte uns, allgemein nach quantitativen Unterschieden bei den Reaktionen der Abderhaldenschen Fermente zu suchen. Die Ergebnisse unserer ersten Versuchsreihen zeigten jedoch Unstimmigkeiten, die auf irgendwelche Fehlermöglichkeiten in der eingangs erwähnten Untersuchungsmethode hinzudeuten schienen. Wir hielten es daher für notwendig, vorerst die Fehlerquellen dieser Modifikation einer Prüfung zu unterziehen.

Es wurde deshalb zunächst der Einfluß der zur Eiweißkoagulation verwendeten Reagentien auf die Ninhydrinreaktion untersucht.

Zu diesem Zwecke wurde eine 1%ige wäßrige Seidenpeptonlösung durch Zusatz entsprechender Mengen 10%iger wäßriger Natriumsulfatlösung auf Peptongehalte von 0,5 ‰ und von 0,25 ‰ verdünnt und je 2 ccm dieser Lösungen in Eprouvetten mit 2 Tropfen einer 0,2 ‰igen wäßrigen Ninhydrinlösung durch 1 Minute in ständigem lebhaften Sieden erhalten. Hierauf wurde die Intensität der hervorgerufenen Färbung mit dem Farbgrade der Ninhydrinreaktion einer 0,5 ‰igen bzw. 0,25 ‰igen wäßrigen, salzfreien Peptonlösung verglichen. Beim Sieden dampfen die Lösungen auf etwa $^1/_3$ ihres ursprünglichen Volumens ein, sind also in bezug auf Natriumsulfat nach dem Erkalten fast gesättigt. Die Farbintensität der Ninhydrinreaktion ist bei der 0,25 ‰igen natriumsulfathaltigen Peptonlösung etwas schwächer als bei dem mit salzfreier wäßriger Peptonlösung ausgeführten Kontrollversuche; bei der 0,5 ‰igen Peptonlösung zeigen salzhaltige und salzfreie Proben die gleiche Farbintensität.

In gleicher Weise wurde eine 1%ige wäßrige Seidenpeptonlösung mit 5%iger wäßriger Natriumsulfatlösung auf Peptongehalte von 0,5 ‰

und von 0,25 ‰ verdünnt. Mit den Verdünnungen wurde die Ninhydrinreaktion ausgeführt und deren Farbintensität mit der Reaktion gleich konzentrierter, salzfreier, wäßriger Peptonlösungen verglichen. Bei der natriumsulfathaltigen 0,25 ‰ igen Peptonlösung war hier die Farbintensität sogar etwas kräftiger als bei der salzfreien Kontrollprobe, was vielleicht auf den höheren Siedepunkt der Salzlösung zurückzuführen ist. Bei den 0,5 ‰ Peptonlösungen hatten die salzhaltige und die salzfreie Probe gleichen Farbgrad.

Die Farben der stark natriumsulfathaltigen Reaktionsproben verblassen relativ schnell.

Demnach üben in der Nähe der Sättigungsgrenze liegende Natriumsulfatkonzentrationen bei niedrigem Peptongehalte einen geringfügigen, aber immerhin nachweisbaren ungünstigen Einfluß auf die Farbintensität der Ninhydrinreaktion aus; bei höherem Peptongehalte wurde ein solcher Einfluß nicht beobachtet. Weniger hohe Salzkonzentrationen beeinflussen die Ninhydrinreaktion auch bei niedriger Peptonkonzentration nicht in nachweisbarem Maße.

Im Gegensatz zum Neutralsalze beeinflussen schon sehr geringe Säurekonzentrationen die Ninhydrinreaktion in außerordentlich hohem Grade[1]). In den folgenden Versuchsreihen wurde der Einfluß der Wasserstoffionen auf den Ausfall der Ninhydrinreaktion bei verschieden konzentrierten Peptonlösungen sowohl an der relativ schwach dissoziierten Essigsäure als auch an der stark dissoziierten Chlorwasserstoffsäure geprüft.

Reihen von je 2 ccm einer 1 ‰ igen wäßrigen Seidenpeptonlösung wurden mit ansteigenden Mengen $^n/_{25}$-Essigsäure bzw. $^n/_{25}$-Chlorwasserstoffsäure angesäuert, mit je 2 Tropfen einer 0,2 ‰ igen wäßrigen Ninhydrinlösung versetzt und durch 1 Minute in lebhaftem Sieden erhalten. Die Farbintensitäten der Reaktionen werden mit 4 Kreuzen bei stärkster, mit 1 Kreuze bei noch deutlich wahrnehmbarer Färbung bezeichnet; mit „tingiert“ werden schwache, eben noch wahrnehmbare, gelbrote Färbungen bezeichnet. In die folgenden Tabellen sind nur die jeweils zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzten Säuremengen in Kubikzentimetern, sowie die ihnen korrespondierenden Farbgrade der Ninhydrinreaktion eingetragen.

---

[1]) Vgl. auch Neuberg, diese Ztschr. 56, 501, 1913; 67, 56, 1914.

Tabelle I.

Versuche mit 1‰iger Peptonlösung und Essigsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge n/25-Essigsäure ccm	Farbgrad	Bemerkungen
1	0,38	++++	
2	0,76	++++	
3	0,95	++++	
4	0,99	++	
5	1,02	++	Schwächer als Nr. 4
6	1,06	+	
7	1,13	+	Schwächer als Nr. 6
8	1,21	+	Stärker als Nr. 7, schwächer als Nr. 6
9	1,32	tingiert	

Der Abfall von stärkster zu relativ schwacher Färbung erfolgt demnach ziemlich scharf bei einem bestimmten geringen Essigsäuremehrgehalte; das völlige Verschwinden der Färbung mit weiter steigendem Säuregehalte erfolgt dagegen nur allmählich.

Die stärkere Tinktion bei Versuch 8 im Vergleiche zum Versuch 7 trotz höheren Säuregehaltes dürfte auf die Abhängigkeit der Ninhydrinreaktion von der Art des Erhitzens zurückzuführen sein. Dieses wird man auch bei großer Übung nicht immer völlig gleichartig ausführen können. Bei Wiederholung der Versuchsreihe zeigten sich ähnliche Unregelmäßigkeiten an anderen Stellen der Reihe, doch waren die Farbunterschiede stets geringer, als einem Kreuzchen unserer Skala entsprochen hätte.

In der gleichen Weise wurde die Einwirkung von n/25-Essigsäure auf die Ninhydrinreaktion wäßriger Seidenpeptonlösungen vom Peptongehalte 0,5‰, 0,25‰, 0,2‰ geprüft. Die Versuchsergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen vereinigt; die Zeichenbedeutung ist die gleiche wie früher.

Tabelle II.

Versuche mit 0,5‰iger Peptonlösung und Essigsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge n/25-Essigsäure ccm	Farbgrad	Bemerkungen
10	0,19	++++	
11	0,38	+++	
12	0,49	++	
13	0,53	++	Stärker als Nr. 12
14	0,57	+	
15	0,64	+	Stärker als Nr. 14
16	0,76	+	Gleich stark wie Nr. 15
17	0,95	tingiert	

Tabelle III.

Versuche mit 0,25 ‰iger Peptonlösung und Essigsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Essigsäure ccm	Farbgrad	Bemerkungen
18	0,00	++	
19	0,15	++++	
20	0,30	+++	
21	0,34	++	
22	0,38	+	Schwächer als Nr. 21
23	0,45	+	
24	0,57	tingiert	

Tabelle IV.

Versuche mit 0,2 ‰iger Peptonlösung und Essigsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Essigsäure ccm	Farbgrad	Bemerkungen
25	0,00	+	Färbung rötlich
26	0,15	++++	
27	0,23	+++	
28	0,27	++	
29	0,30	+	
30	0,34	+	Stärker als Nr. 29
31	0,45	tingiert	

Der Übergang von stärkster zu relativ schwacher Tinktion erfolgt demnach auch bei niedrigeren Peptonkonzentrationen ähnlich der 1 ‰igen Peptonlösung scharf bei einem gewissen geringen Essigsäuremehrgehalte. Ebenso ist ein relativ großer weiterer Säurezusatz erforderlich, um die schwache Farbreaktion völlig zum Verschwinden zu bringen.

In analoger Weise wurde der Einfluß von $^n/_{25}$-Chlorwasserstoffsäure auf die Ninhydrinreaktion verschieden konzentrierter Seidenpeptonlösungen geprüft. Die folgenden Zusammenstellungen enthalten die Ergebnisse der einzelnen Versuche.

Tabelle V.

Versuche mit 1 ‰iger Peptonlösung und Chlorwasserstoffsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad
32	0,28	++++
33	0,33	+++
34	0,39	—

Tabelle VI.

Versuche mit 0,5 $^0/_{00}$iger Peptonlösung und Chlorwasserstoffsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad	Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{50}$-Salzsäure ccm	Farbgrad
			37	0,00	++++
35	0,22	++++			
			38	0,50	+++
36	0,28	–	39	0,56	tingiert

Tabelle VII.

Versuche mit 0,25 $^0/_{00}$iger Peptonlösung und Chlorwasserstoffsäure.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad	Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{50}$-Salzsäure ccm	Farbgrad
			42	0,00	+
			43	0,11	++
40	0,17	++++			
			44	0,39	++++
41	0,22	–	45	0,44	–

Tabelle VIII.

Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad	Bemerkungen	Nr.	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^n/_{50}$-Salzsäure ccm	Farbgrad
46	0,00	+	Farbe rötlich			
47	0,11	+++		50	0,22	+++
48	0,17	+++	Stärker als 47	51	0,34	
				52	0,39	+++
49	0,22	–		53	0,44	tingiert

Der Übergang von positiver Ninhydrinreaktion mit intensiver Blaufärbung zur negativen Farbreaktion erfolgt demnach bei Zusatz von Salzsäure zu Peptonlösungen direkt ohne die schwach gefärbten Zwischenstufen, die beim Essigsäurezusatz beobachtet werden. Dieser Unterschied dürfte auf die wesentlich stärkere Dissoziation der Salzsäure zurückzuführen sein; diese wird für den Ausfall der Ninhydrinreaktion um so bedeutungsvoller sein, als das Triketohydrindenhydrat (Ninhydrin) deutlich saure Reaktion zeigt.

Der Umschlag von intensivster Färbung ins Farblose er-

folgt mit der Schärfe eines guten Indicators auf einen Tropfen Säuremehrzusatz, sofern die Peptonkonzentration nicht geringer als 0,2 $^0/_{00}$ ist. Bei noch niedrigerem Peptongehalte (die Empfindlichkeitsgrenze der Ninhydrinreaktion liegt unter unseren Versuchsbedingungen bei etwa $^1/_8$ $^0/_{00}$ Peptongehalt) erfolgt der Übergang auch bei Verwendung von Salzsäure mit ähnlichen Zwischenstufen wie bei der Anwendung von Essigsäure.

Beim Ansäuern mit $^n/_{50}$-Salzsäure erfolgt der Farbumschlag mit der gleichen Schärfe wie bei der $^n/_{25}$-Säure. Die Säurekonzentrationen, bei denen der Übergang von positiver zu negativer Ninhydrinreaktion erfolgt, sind die gleichen bei Verwendung von $^n/_{25}$- und von $^n/_{50}$-Salzsäure, sind jedoch verschieden von den korrespondierenden Essigsäurekonzentrationen. Eine Verwertung dieser scharfen Übergangsreaktion zur quantitativen Peptonbestimmung soll gelegentlich versucht werden.

Die Intensität der Ninhydrinfarbreaktion wird bei Lösungen mit geringem Peptongehalte durch allmählichen Säurezusatz wahrscheinlich infolge Zurückdrängung hydrolytischer Vorgänge zunächst verstärkt. Uns kam diese Tatsache bei späteren Versuchen sehr zustatten.

Das Verhältnis „Peptonkonzentration zu Salzsäurekonzentration beim Übergang von positiver zu negativer Ninhydrinreaktion“ ist, wie aus den Versuchsdaten hervorgeht, durch eine Konstante für alle Peptonkonzentrationen nicht ausdrückbar. Das Gleiche gilt für die Essigsäure.

Wir konnten auch durch den Vergleich der korrespondierenden bei der Essigsäure und Salzsäure ermittelten Daten keine allgemeiner gültige, zahlenmäßig ausdrückbare Gesetzmäßigkeit ermitteln.

Wird zu einer Peptonlösung über ihren für die Ninhydrinreaktion ermittelten Säuregrenzwert hinaus weiter Säure zugefügt, so bleibt die Ninhydrinreaktion negativ. Eine solche ursprünglich zu stark saure Peptonlösung gibt jedoch nach der Neutralisation mit NaOH die Ninhydrinreaktion mit derselben Farbintensität wie eine gleich konzentrierte, direkt durch Auflösen von Pepton in Wasser bereitete Lösung. Bei diesen Versuchen wurde Phenolphthalein als Indicator verwendet. Die leichte, durch den Indicator bewirkte Rosafärbung der neutralisierten Lösungen verschwindet beim Zusatz des Ninhydrins. Beim Kochen der Lösungen tritt jedoch infolge der Hydrolyse eine so starke Phenolphthaleinrotfärbung ein, daß hierdurch die Farbe der Ninhydrinreaktion vollkommen verdeckt wird. Da wir in früheren Versuchen ermittelt

hatten, daß durch geringen Säurezusatz die Intensität der Ninhydrinreaktion zunächst verstärkt wird, trugen wir kein Bedenken, die Hydrolyse durch geringen Salzsäurezusatz zurückzudrängen. Ein Zusatz von 1 Tropfen $^n/_{25}$-Salzsäure zum Kubikzentimeter Lösung war für diesen Zweck hinreichend.

Zu hohe Konzentration der Wasserstoffionen kann demnach negative Ninhydrinreaktion vortäuschen.

Diese Fehlerquelle muß daher vor Ausführung der Farbreaktion stets ausgeschaltet sein. Die Koagulation des Eiweißes in neutraler Lösung wäre wohl der einfachste Weg, um diesen Fehler zu vermeiden. Wir konnten uns jedoch durch eine Reihe von Versuchen überzeugen, daß eine vollständige Ausfällung des Eiweißes selbst bei Anwendung der mit Rücksicht auf die Ninhydrinreaktion zulässigen Höchstkonzentration des Neutralsalzes ohne einen gewissen Säurezusatz unmöglich ist. Die durch eine zu hohe Konzentration der Wasserstoffionen etwa bedingten Fehler können daher nur durch nachträgliche Neutralisation des enteiweißten Filtrates ausgeschaltet werden.

Wir suchten nun die Mindestsäuremenge zu ermitteln, die zur völligen Ausfällung des Eiweißes bei einem Natriumsulfatgehalte des Reaktionsgemisches von 3 % genügt. Wir entschlossen uns, statt der üblichen Essigsäure Salzsäure zu verwenden, da wir von der beim Sieden eintretenden Hydrolyse größerer Acetatmengen Störungen befürchteten. Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt.

Eine Reihe von je 2 ccm Serum (einem Rekonvaleszenten nach Pneumonie entnommen) wurde mit 3 ccm einer 10 %igen Natriumsulfatlösung und mit jeweils um 1 ccm ansteigenden Mengen $^n/_{25}$-Salzsäure sowie mit der auf 10 ccm Flüssigkeit fehlenden Menge Wasser versetzt, für 15 Minuten ins siedende Wasserbad eingestellt und hierauf filtriert.

Tabelle IX.

Nr.	Zu 2 ccm Serum zugefügte Menge			Eiweißgehalt des Filtrates	Ninhydrinreaktion des neutralisierten Filtrates
	10 %iger Natriumsulfatlösung ccm	$^n/_{25}$-Salzsäure ccm	Wasser ccm		
54	3	1	4	reichlich	
55	3	2	3	"	
56	3	3	2	deutlich	
57	3	4	1	—	—

Die Filtrate wurden durch Erhitzen mit reichlich zugesetzter Essigsäure auf Eiweißfreiheit geprüft. In die Tabelle IX, S. 178, sind Säuremenge, Eiweißgehalt und Ninhydrinreaktion aufgenommen.

Die zu 2 ccm Serum zugefügte Säuremenge von 4 ccm $^n/_{25}$-Salzsäure ist, in Äquivalenten ausgedrückt, doppelt so groß als die von E. Freund und G. Kaminer empfohlene Menge von 2 Tropfen einer 5%igen Essigsäure. Bei Wiederholungen mit anderen Seris war nur einmal unter mehr als 60 Fällen der Zusatz von 4 ccm $^n/_{25}$-Salzsäure zur völligen Eiweißfällung unzureichend.

Der negative Ausfall der Ninhydrinreaktion nach völliger Enteiweißung beweist ferner, daß sich zwischen Säure und Serumeiweiß keinerlei Nebenreaktion abspielt, die einen nachweisbaren Einfluß auf die Ninhydrinreaktion auszuüben vermag.

Wir erhitzten auch in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte ninhydrinfreie Organproteine nach Zusatz von 3 ccm einer 10%igen Natriumsulfatlösung und von 5 ccm einer $^n/_{25}$-Salzsäure durch 15 Minuten im siedenden Wasserbade, filtrierten und führten mit 2 ccm des eiweißfreien Filtrates die Ninhydrinreaktion aus. Die Reaktion war stets negativ. Daraus geht hervor, daß durch die Einwirkung von Salzsäure aus den Proteinen unter unseren Versuchsbedingungen filtrierbare Reaktionsprodukte, die positive Ninhydrinreaktion geben, nicht gebildet werden.

In einer weiteren Versuchsreihe untersuchten wir den Säureverbrauch während der Eiweißkoagulation.

Es wurden wiederum Reihen von je 2 ccm Serum mit 3 ccm einer 10%igen wäßrigen Natriumsulfatlösung und mit jeweils um 1 ccm steigenden Mengen $^n/_{25}$-Salzsäure, sowie mit der auf 10 ccm Flüssigkeit fehlenden Menge Wasser versetzt, durch 15 Minuten ins siedende Wasserbad eingetaucht und filtriert. In 5 ccm des Filtrates wurde hierauf der Säuregehalt titrimetrisch bestimmt (Indicator Phenolphthalein) und hieraus der Säureverbrauch während der Eiweißkoagulation berechnet. Eine analoge Versuchsreihe wurde mit $^n/_{25}$-Essigsäure ausgeführt. Die Versuchsdaten von zwei solcher Reihen sind in die beiden folgenden Tabellen X und XI, S. 180, eingeordnet.

Wir konnten aus diesen Zahlen sowie aus den Versuchsergebnissen analoger Reihen besondere gesetzmäßige Beziehungen etwa zwischen ursprünglicher Säurekonzentration und adsorbierter Säuremenge nicht herauslesen. Der Säureverbrauch be-

Tabelle X.

Nr.	Zu 2 ccm Serum zugefügte Menge			Zur Neutralisation des Filtrates verbrauchte Menge $^{n}/_{25}$-NaOH	Während der Eiweißkoagulation verbrauchte Menge $^{n}/_{25}$-Salzsäure
	10 $^{0}/_{0}$iger Natriumsulfatlösung	$^{n}/_{25}$-Salzsäure	Wasser		
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
58	3	1	4	0,34	0,66
59	3	2	3	0,56	1,44
60	3	3	2	1,04	1,96
61	3	4	1	1,54	2,46
62	3	5	0	2,06	2,94

Tabelle XI.

Nr.	Zu 2 ccm Serum zugefügte Menge			Zur Neutralisation des Filtrates verbrauchte Menge $^{n}/_{25}$-NaOH	Während der Eiweißkoagulation verbrauchte Menge $^{n}/_{25}$-Essigsäure
	10 $^{0}/_{0}$iger Natriumsulfatlösung	$^{n}/_{25}$-Essigsäure	Wasser		
	ccm	ccm	ccm	ccm	ccm
63	3	2	3	0,86	1,14
64	3	3	2	1,58	1,42
65	3	4	1	2,30	1,70
66	3	5	0	3,16	1,84

trägt oft mehr als 50 $^{0}/_{0}$ der ursprünglich zugesetzten Säuremenge.

Dies veranlaßte uns zu prüfen, ob bei der Eiweißfällung eine ähnlich starke Adsorption jener Körper stattfindet, die positive Ninhydrinreaktion zu geben befähigt sind. Die ersten Versuche wurden mit Seidenpepton ausgeführt. Die quantitative Bestimmung des Peptongehaltes der nach der Enteiweißung verbleibenden Lösungen erfolgte derart, daß wir diejenige Salzsäuremenge ermittelten, bei deren Zusatz der Übergang von positiver zu negativer Ninhydrinreaktion erfolgte. Diese Zahlen gestatten, wie wir früher zeigten, einen Rückschluß auf den Peptongehalt der untersuchten Lösung.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt. Aus Serum und aus einer 1 $^{0}/_{0}$igen wäßrigen Seidenpeptonlösung wurden Serumproben von einem Peptongehalte von 1 $^{0}/_{00}$, 0,5 $^{0}/_{00}$ und von 0,25 $^{0}/_{00}$ bereitet. Je 2 ccm dieser Serumproben wurden in Eprouvetten mit 3 ccm einer 10 $^{0}/_{0}$igen wäßrigen Natriumsulfatlösung, 4 ccm $^{n}/_{25}$-Salzsäure und mit 1 ccm Wasser versetzt, zur Koagulation des Eiweißes durch 5 Minuten im siedenden Wasserbade unter anfänglichem kräftigen Schütteln erhitzt und dann durch trockene Papierfilter filtriert. Hierauf neutralisierten

wir die eiweißfreien Filtrate unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator. Reihen von je 2 ccm dieser Filtrate wurden dann in weiten Eprouvetten, mit steigenden Mengen $^{n}/_{25}$-Salzsäure und mit je 2 Tropfen einer 0,2 ‰igen Ninhydrinlösung versetzt, durch 1 Minute im lebhaften Sieden erhalten. Die Säuremengen, zwischen denen der Übergang von positiver zu negativer Ninhydrinreaktion erfolgte, sind mit den entsprechenden Intensitätsbezeichnungen der Farbreaktion in die nachfolgenden Tabellen eingetragen.

Zur Herstellung der Vergleichsproben wurde eine größere Menge Serum ohne Peptonzusatz durch Zufügen entsprechender Mengen von Natriumsulfatlösung, Salzsäure und Wasser in der eben beschriebenen Weise enteiweißt und filtriert. Aus dem unter Verwendung von Phenolphthalein neutralisierten Filtrat wurden durch Zusatz von 1 %iger wäßriger Seidenpeptonlösung Verdünnungen vom Peptongehalte 1 ‰, 0,5 ‰ und 0,25 ‰ bereitet. Auch hier wurde in der gleichen Weise wie früher die Grenze, bei der die positive Ninhydrinreaktion eben ausbleibt, durch Zusatz ansteigender Mengen $^{n}/_{35}$-Salzsäure zu Reihen von je 2 ccm Lösung bestimmt. Die bei den Vergleichsproben ermittelten Daten sind in die rechte Hälfte der nachfolgenden Tabellen eingereiht.

Tabelle XII.

Versuche mit dem Peptongehalte von 1 ‰.

Nr.	Peptonzusatz zum Serum		Bemerkungen	Nr.	Peptonzusatz zum enteiweißten Filtrat		Bemerkungen
	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^{n}/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad			Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^{n}/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad	
				69	0,11	+++	
				70	0,34	+++	
67	0,39	++	Schwächer als 71	71	0,39	++	
68	0,44	—		72	0,44	tingiert	rotgelb
				73	0,50	„	gelblich

Tabelle XIII.

Versuche mit dem Peptongehalte von 0,5 ‰.

Nr.	Peptonzusatz zum Serum		Nr.	Peptonzusatz zum enteiweißten Filtrat	
	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^{n}/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad		Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge $^{n}/_{25}$-Salzsäure ccm	Farbgrad
74	0,11	++++			
75	0,22	++	77	0,22	++++
76	0,28	tingiert	78	0,28	—

Tabelle XIV.

Versuche mit dem Peptongehalte von 0,25 ‰.

Nr.	Peptonzusatz zum Serum		Nr.	Peptonzusatz zum enteiweißten Filtrat	
	Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge n/25-Salzsäure ccm	Farbgrad		Zu 2 ccm Peptonlösung zugesetzte Menge n/25-Salzsäure ccm	Farbgrad
79	0,17	++++	82	0,17	+++
80	0,22	tingiert	83	0,22	tingiert
81	0,28	–			

Die Säurewerte, bei denen der Übergang von positiver zu negativer Ninhydrinreaktion erfolgt, sind demnach bei Zusatz des Peptons vor der Koagulation des Eiweißes im wesentlichen die gleichen wie bei jenen Versuchen, bei denen der Zusatz des Peptons erst nach der Enteiweißung erfolgte. Daraus geht hervor, daß Pepton bei der Fällung des Eiweißes in saurer Lösung von den Koagulis nicht in nachweisbarer Menge adsorbiert wird.

Nachdem wir derart eine Reihe von Fehlerquellen erkannt und die Versuchsbedingungen entsprechend geändert hatten, prüften wir die Anwendbarkeit der modifizierten Reaktion statistisch an einer etwas größeren Versuchsreihe.

Wir ließen je 10 Sera von Graviden, von Carcinomatösen und von anderen Kranken in 3 Parallelversuchen auf Trockenproteine der Placenta des menschlichen Serums und des carcinomatösen Gewebes einwirken. Zur Bereitung des Placentaproteins wurde nach Pregls Vorschrift[1]) eine Placenta entblutet, von der Eihaut und den größeren Gefäßen befreit, zerrissen, haschiert, mehrmals in etwa 10 l Wasser aufgerührt und dann in einem Tuche koliert. Der Rückstand wurde mit der gleichen Menge Kochsalz durchknetet, neuerlich haschiert, dann mehrmals in viel Wasser aufgeschwemmt und wiederum koliert. Der Organkuchen wurde nun in destilliertem Wasser auf dem Wasserbade koaguliert, koliert, mit heißem Wasser gewaschen und in einem Koliertuche abgepreßt. Dann wurde der Preßkuchen durch 5 Minuten mit 95%igem Alkohol geschüttelt, koliert, neuerlich durch 5 Minuten mit einem Gemisch gleicher Teile von absolutem Alkohol und Äther geschüttelt, koliert und ebenso mit Äther behandelt. Das Organpulver wurde nunmehr auf einer Nutsche gesammelt und nach dem Verdunsten des Äthers „ninhydrinfrei" gekocht. Der ninhydrinfrei gekochte Organbrei wurde dann in der eben beschriebenen Weise mit Alkohol, Alkoholäther āā und mit Äther behandelt und nach dem Absaugen des Äthers im Exsiccator getrocknet.

[1]) Fermentforschung 1, 7, 1914.

Zur Bereitung des Serumproteins wurde blutkörperchenfreies Leichenserum von hohem spezifischen Gewicht im Wasserbade koaguliert. Die Koagula wurden mehrmals mit heißem Wasser gewaschen, koliert und in der gleichen Weise wie der Placentabrei nacheinander mit Alkokol, Alkohol-Äthermischung und mit Äther behandelt, ninhydrinfrei gekocht und hierauf wiederum mit Alkohol, Alkoholäther $\widetilde{aa}$ und mit Äther extrahiert und getrocknet.

Das Carcinomprotein trachteten wir tunlichst nur aus Carcinomzellen zu bereiten. Zu diesem Zwecke preßten wir in etwa nußgroße Stücke zerkleinertes, carcinomatöses Gewebe durch eine vierfache Lage von Gaze in eine größere Menge physiologischer Kochsalzlösung. Der größte Teil des Bindegewebes wird hierbei von der Gaze zurückgehalten. Wir zentrifugierten hierauf die Zellemulsion, wuschen die Carcinomzellen zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung an der Zentrifuge, koagulierten sie im kochenden Wasserbade und wuschen sie hierauf an der Zentrifuge zweimal mit heißem Wasser. Dann schüttelten wir die Zellen durch 5 Minuten mit 95 $^0/_0$igem Alkohol, zentrifugierten und behandelten sie ebenso mit Alkohol-Äthermischung und mit Äther. Nach dem Verdunsten des Äthers wurde das Zellmaterial ninhydrinfrei gekocht, koliert und wieder nacheinander mit Alkohol, Alkoholäther und mit Äther behandelt und getrocknet.

Etwa 0,03 g Trockenprotein wurden vor der Ausführung der einzelnen Versuche mit kochender, 0,8 $^0/_0$iger Kochsalzlösung in kleinen Eprouvetten übergossen und durch 1 Stunde ins siedende Wasserbad eingetaucht. Dadurch erzielten wir eine vollkommene Quellung. Die gequollenen Proteine wurden zentrifugiert und nach dem Entfernen der Kochsalzlösungen in 2 ccm Serum eingetragen. Das Serum wurde in Eprouvetten mit Toluol überschichtet und durch 18 Stunden bei 37^0 gehalten. Dann pipettierten wir das Toluol ab, fügten zum Serum 3 ccm 10 $^0/_0$ige Natriumsulfatlösung und 5 ccm $^n/_{25}$-Salzsäure zu, schüttelten kräftig durch[1]), erhitzten 1 Minute lang im siedenden Wasserbade, ließen erkalten und filtrierten durch trockene Papierfilter. Wir erhitzten dann etwa $^1/_2$ ccm des Filtrates mit der gleichen Menge 10 $^0/_0$iger Essigsäure zum Sieden, um uns von der Vollständigkeit der Eiweißfällung zu überzeugen; den Rest des Filtrates neutralisierten wir mit kohlensäurefreier, $^n/_{25}$-Natronlauge unter Verwendung von Phenolphthalein als Indicator. Der Alkaliverbrauch schwankte bei den einzelnen Versuchen innerhalb weiter Grenzen. 2 ccm des neutralisierten Filtrates wurden mit 2 Tropfen

---

[1]) Die gelösten Einwirkungsprodukte des Serums auf die Proteine sind wegen des höheren spezifischen Gewichtes ihrer Lösungen und vielleicht auch infolge einer gewissen Adsorptionswirkung der festen Partikelchen zunächst im Sediment derart angereichert, daß das ohne Erschütterung abpipettierte Serum (nach der Enteiweißung) oft negative Ninhydrinreaktion zeigt, während eine Aufschwemmung des Sedimentes in physiologischer Kochsalzlösung (ebenfalls nach der Enteiweißung) sehr stark positive Ninhydrinreaktion gibt.

einer $0{,}2\,^0/_{00}$igen wäßrigen Ninhydrinlösung und mit 2 Tropfen einer $^n/_{25}$-Chlorwasserstoffsäure versetzt und in weiten Eprouvetten durch 1 Minute im lebhaften Sieden erhalten. Die Farbintensitäten der Ninhydrinreaktion, die in der früher angegebenen Weise bezeichnet wurden, sind in die nachfolgenden Tabellen eingetragen. Alle verwendeten Sera wurden durch Venaepunktion erhalten. Leichenserum baut alle 3 Proteine stets ab.

Tabelle XV.

Versuche mit Gravidenserum.

Nr.	Name	Placentaprotein	Carcinomprotein	Serumprotein
82	Re.	+	+	tingiert
83	Ra.	+++		„
84	Pr.	++		–
85	Pa.	–	–	–
86	Be.	+++	+	–
87	Ot.	++++	tingiert	–
88	Te.	++	„	–
89	Ja.	+	–	–
90	Po.	++	+	–
91	Pa.	+++	+	–

Tabelle XVI.

Versuche mit dem Serum Carcinomatöser.

Nr.	Name	Placentaprotein	Carcinomprotein	Serumprotein
92	Se., ♀	–	+	–
93	Kl., ♀	–	tingiert	–
94	Se., ♀	+	++	tingiert
95	Nn., ♂	tingiert	++++	–
96	Ma., ♂	–	++	–
97	Ka., ♂	–	–	–
98	Ro., ♀	–	+++	–
99	Nn., ♂	–	++	–
100	Du., ♀	++	++	–
101	Tu., ♂	–	+	–

Tabelle XVII.

Versuche mit dem Serum diverser Kranker.

Nr.	Name	Diagnose	Placenta-protein	Carcinom-protein	Serum-protein
102	Ka., ♂	Urämie	–	–	–
103	Pe., ♂	Nephritis	+	tingiert	tingiert
104	Ro., ♀	Myom	tingiert	–	–
105	Wä., ♂	Spondylitis	++	+	–
106	Gr., ♂	Appendicitis	–	–	–
107	Nn., ♂	Lues	–	+	tingiert
108	Nn., ♂	„	tingiert	tingiert	–
109	Nn., ♂	„	–	–	–
110	Sl., ♀	Ulcus ventriculi	–	–	–
111	Ob., ♀	Cholelithiasis	tingiert	tingiert	tingiert

Aus den eben angeführten Daten geht hervor, daß die Reaktion selbst nach Ausschaltung der von uns ermittelten Fehlerquellen ungefähr 30% Fehlresultate gibt. Sie schien uns daher als Grundlage für die von uns ursprünglich geplanten quantitativen Untersuchungen ungeeignet. Als diagnostisches Hilfsmittel könnte sie immerhin verwendet werden, wenn man die schwache „Tinktion“ überhaupt vernachlässigt und bei gleichzeitigem Abbau zweier Proteine die stärkere Färbung als für die Diagnose maßgebend ansieht.

Über den Kalkgehalt des Blutes bei kalkbehandelten Katzen.

Von

W. Heubner, Stabsarzt, und **P. Rona.**

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Kaiser-Wilhelms-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen.)

(Eingegangen am 11. November 1918.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die vielfachen Wirkungen des Calciums, die im Tierexperiment und in der menschlichen Therapie beobachtet wurden bieten vor sonstigen pharmakologischen Wirkungen die Besonderheit, daß sie durch ein Ion ausgelöst werden, das auch normalerweise im Körper kreist, ja dessen Fehlen ebenfalls sehr erhebliche „Wirkungen", d. h. Änderungen des Funktionsablaufs setzt. Es handelt sich also bei der Kalkwirkung immer nur um die Vermehrung eines Körperbestandteils über einen gewissen Betrag hinaus, da ja geringfügige Schwankungen in dem Gegenspiel von Nahrungsaufnahme und Ausscheidung von selbst eintreten müssen.

Daraus ergibt sich die Frage: Wie groß ist dieser Betrag im Verhältnis zu der normalerweise vorhandenen Menge und zu deren Schwankungen?

In den bekannten physiologischen Lösungen, wie sie nach Ringer, Locke, Tyrode zur Frischhaltung überlebender Organe benutzt werden, beträgt der Gehalt an $CaCl_2$ gewöhnlich 0,02% bei gleichviel Kaliumchlorid und 30- bis 40fachen Kochsalzmengen. Eine Erhöhung des Calciumgehaltes ist (ebenso wie eine Erniedrigung) je nach ihrem Grade von minimalen bis zu beträchtlichen Funktionsänderungen begleitet, z. B. von Tonusvermehrung am Herzen[1]), Verminderung der Erregbarkeit am Skelett-

[1]) Vgl. z. B. Sidney Ringer, Journ. of Physiol. **4**, 29, 1883; **8**, 15, 1887. — W. Straub, Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte **1912**, I, 202f. — Kionka, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **17**, 108, 1915. — O. Gros, Unveröffentlichte Versuche, persönliche Mitteilung.

muskel[1]) u. dgl. Über die „günstigste“ Konzentration an Calcium besteht keineswegs Einmütigkeit, sie scheint auch von Organ zu Organ zu wechseln. So hält Keith Lucas die Ringersche Konzentration für abnorm hoch gegenüber dem Froschmuskel[2]); auch Göthlin nimmt für das Froschherz einen geringeren Kalkgehalt in seine Lösung[3]), andererseits wirkt eine Erhöhung des Calciumgehaltes vorteilhaft auf die Funktion des überlebenden Herzens[4]) sowie des Zentralnervensystems[5]) von Säugetieren.

Über die Beziehungen von Calciumwirkung und Calciumkonzentration in einem unverletzten Säugetierorganismus können wir aus den einverleibten Dosen nur eine vorläufige grobe Orientierung gewinnen. Tödlich sind nach Hans Meyer und Gottlieb[6]) einmalige subcutane Dosen von 0,3 bis 0,4 g $CaCl_2$ pro Kilogramm (wohl für Kaninchen), nach Erfahrungen von Magnus[7]) etwa die Hälfte für Katzen; das entspricht etwa einer Vermehrung des normalen Körperkalks um 75—100%, wenn man die Voraussetzung macht, daß die Kalkkonzentration des Blutes auch für die Gewebe annähernd gilt, natürlich mit Ausnahme der Knochen. Greifbare Wirkungen am Tier wurden im allgemeinen nur bei Dosen gesehen, die nicht weit unter der tödlichen Schwelle lagen; zuweilen wurde diese auch weit überschritten, z. B. von Rosenow[8]), der bis zu 1,5 g des wasserfreien Chlorcalciums pro Kilogramm im Laufe eines Tages stieg und oft 0,75 g pro Kilogramm verabreichte. In der menschlichen Therapie sind oft frappante Erfolge mit viel kleineren Dosen erzielt worden[9]), während allerdings Blühdorn[10]) bei Säuglingen 2 bis 4 g des wasserfreien Salzes im Laufe eines Tages innerlich empfiehlt, was immerhin schon an das Gebiet der Dosen heranreicht, die sich auch beim Tier als wirksam erweisen.

Wertvoller wären Ergebnisse, die aus Analysen der Körpergewebe während der Kalkwirkung gewonnen wurden. Leider ist das darüber vorliegende Material recht ungleichwertig, da Kalkbestimmungen mit der Genauigkeit, wie sie die Frage erfordert, nicht leicht sind, oft auch mit unzuverlässigen Methoden vorgenommen wurden. So kommt es, daß

---

[1]) S. Ringer, Journ. of Physiol. **8**, 20, 1887. — G. R. Mines, ebenda **37**, 408, 437ff., 1908. — M. v. Frey, Nagels Handb. d. Physiol. **4**, 2. Hälfte, 501 u. 502, 1909.

[2]) Journ. of Physiol. **37**, 459, 472ff., 1908.

[3]) Skandin. Arch. f. Physiol. **12**, 39, 1902.

[4]) Langendorff und Hueck, Arch. f. d. ges. Physiol. **96**, 473, 1903.

[5]) P. Gerlach, diese Zeitschr. **61**, 125, 1914.

[6]) Experimentelle Pharmakologie, 3. Aufl., S. 482. Berlin-Wien 1914.

[7]) Persönliche Mitteilung.

[8]) Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **4**, 427, 1915.

[9]) Erich Meyer, Therap. Monatsh. **25**, 411, 1910. — Hans Curschmann, Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk. **39**, 38, 1910; **45**, 405, 1912.

[10]) Monatsschr. f. Kinderheilk. **12**, Origin., 185, 1914.

sogar über den normalen Gehalt der verschiedenen Gewebe an Kalk sehr wenig Sicheres auszusagen ist. Kürzlich hat W. H. Jansen[1]) eine Reihe zur Ermittlung des Blutkalkes verwendeter Methoden einer kritischen Besprechung unterzogen und auch auf die schwankenden Resultate der bisherigen chemischen Analysen hingewiesen. N. Voorhoeve[2]) untersuchte mit einer unvollkommenen Methode das Blut von erwachsenen Männern, die pro Tag 15 g Calciumlactat innerlich erhalten hatten, und glaubt meist eine — ziemlich unbedeutende, doch gelegentlich wochenlang anhaltende — Steigerung des Blutkalkes ermittelt zu haben. A. Kost[3]) analysierte die Organe von 3 jungen wachsenden Kaninchen, die wochenlang mit Chlorcalcium gefüttert worden waren, in Vergleich mit 3 Kontrolltieren des gleichen Wurfes; er fand eine geringfügige Vermehrung der prozentischen Kalkmengen im Blute und in der Leber, etwas mehr in Milz, Niere und Magen, deutliche in Knochen, Muskeln und Darm; in der Lunge, im Hirn und im Herzen erschien auffallenderweise der Kalkgehalt vermindert.

Besser gestützt sind bisher die analytischen Befunde, die eine Kalkverminderung in den Geweben bei gleichzeitigen entsprechenden Funktionsänderungen anzeigen: Quest[4]) ermittelte bei Säuglingen mit Tetanie, Weigert[5]) bei einem unter Krämpfen spontan gestorbenen jungen Hunde einen deutlich subnormalen Kalkgehalt im Gehirn; dasselbe bestätigten W. G. Mac Callum und Voegtlin[6]) am Gehirn und Blut von Hunden, die nach Exstirpation der Nebenschilddrüsen Tetanie bekommen hatten.

Wir setzten uns die Aufgabe, bei kalkbehandelten Tieren zunächst die Veränderungen des Blutkalks festzustellen. Dazu nahmen wir die von Jansen gründlich durchgeprüfte und mit viel Erfolg angewandte Methode auf, die es erlaubt, auch in kleinen Blutmengen eine Calciumbestimmung von hinreichender Genauigkeit auszuführen; wir richteten uns genau nach seiner sorgfältigen Beschreibung[7]).

Unsere Versuchstiere waren Katzen, die zum größten Teil aus dem Etappengebiet in Frankreich gesandt worden waren. Sie wurden täglich mit gekochtem Pferdefleisch und Kartoffel- und Gemüseabfällen aus einer Kaserne gefüttert (Sommer 1918).

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 176, 1918; Deutsch. Arch. f. klin. Med. **125**, 168, 1918.

[2]) Diese Zeitschr. **32**, 394, 1911.

[3]) Die Kalkverteilung im Organismus nach Aufnahme von Chlorcalcium. Inaug.-Diss. Bonn 1913.

[4]) Jahrb. f. Kinderheilk. **61**, 114, 1905.

[5]) Monatsschr. f. Kinderheilk. **5**, 457, 1906.

[6]) Journ. of experim. Med. **11**, 118, 1909.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 176, 1918.

Die zu den Analysen nötigen Blutproben entnahmen wir stets aus der Carotis, und zwar im allgemeinen in einer Menge von 30 bis 40 ccm. Das Blut wurde durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert. Eine Probe davon — fast immer 10 ccm — wurde nach sorgfältigem Durchschütteln abgemessen und auf Calcium analysiert. Eine zweite Probe, deren Größe sich nach der im ganzen zur Verfügung stehenden Blutmenge richtete, wurde zentrifugiert, vom Serum ein möglichst großer Teil abgemessen und ebenso weiterbehandelt; gewöhnlich kamen dabei 6 bis 10 ccm Serum zur Analyse. Eine dritte kleinste Probe endlich wurde im Hämatokriten bis zum konstanten Volumen der Blutkörperchensäule zentrifugiert.

Sämtliche erhaltenen Zahlen finden sich in Tabellen I bis III zusammengestellt. Sie dürfen ohne weiteres als gültig auch für das fließende Blut betrachtet werden, da die mit dem Fibrin niedergeschlagene Menge nicht ins Gewicht fällt; sie beträgt nach Jansen nur 0,34 mg CaO pro 100 ccm Blut[1]).

Tabelle I.

Kein Calcium.

Nr.	Körpergewicht	Aderlaß		Menge	Blutanalyse		CaO	Serumanalyse		CaO	Hämatokrit Blutkörperchen
		Zahl	Zeit		angewandt	gefunden n/100-Thiosulfat		angewandt	gefunden n/100-Thiosulfat		
	kg		Std.	ccm	ccm	ccm	mg	ccm	ccm	mg	%
1	2,0	1.	0	28	10	3,71	> 1,04	7,0	4,29	1,20	34
		2.	0,7	33	10	4,63	1,30	7,5	4,72	1,32	34
2	2,0	1.	0	32	10	4,12	1,15	7,5	4,09	1,15	37
		2.	2,5	21	8	3,52	0,99	7,5	4,33	1,21	30
3	4,0	1.	0	38	10	4,20	1,18	5,5	4,05	1,13	45
		2.	1,9	38	10	3,62	1,01	7,0	4,55	1,27	40
		3.	27,0	18	8	3,29	0,92	5,5	2,88	0,81	28
		4.	48,0	51	10	3,88	1,08	10,0	4,36	1,22	25
4	3,6	1.	0	29	10	3,57	1,00	—	—	—	—
		2.	2,7	33	10	3,55	0,99	4,5	2,41	0,67	48
		3.	6,3	30	10	4,40	1,23	5,5	2,89	0,81	42
		4.	74,0	29	10	4,30	1,20	10,0	5,00	1,40	29
5	2,2	1.	0	15	10	3,43	0,96	—	—	—	—
		2.	0,5	12	10	4,80	1,34	—	—	—	—
		3.	6,2	22	10	4,40	1,23	—	—	—	—

[1]) Arch. f. klin. Med. **125**, 185, 1918.

Tabelle II.

Calciuminjektionen.

Nr.	Körpergewicht	Aderlaß		Menge	Calciumchlorid 5% ($CaCl_2 + 6 H_2O$)			Blutanalyse			Serumanalyse			Hämatokrit Blutkörperchen
		Zahl	Zeit		Anwendungsform	Zeit	Dosis	angewandt	gefunden $^n/_{100}$-Thiosulfat	CaO	angewandt	gefunden $^n/_{100}$-Thiosulfat	CaO	
	kg		Std.	ccm		Std.	ccm	ccm	ccm	mg	ccm	ccm	mg	%
6	3,0	1.	0	43	intravenös	0,3	7,2	10	3,92	1,09	8,0	4,15	1,16	47
		2.	3,0	31				10	3,93	1,10	5,0	3,96	1,11	47
		3.	8,0	50				10	3,59	1,00	10,0	4,70	1,32	36
7	3,3	1.	0	41	intravenös	17,5	8,5	10	4,34	1,22	8,0	4,04	1,13	33
		2.	19,3	36				10	5,86	1,64	9,0	6,56	1,84	25
		3.	24,0	50				10	4,14	1,16	10,0	5,06	1,42	20
8	3,1	1.	0	36	intravenös	0,6	12,0	10	3,84	1,07	7,0	4,75	1,33	40
		2.	0,8	40				10	8,62	2,41	7,0	9,44	2,64	45
9	2,8	1.	0	34	intravenös	0,5	15,0	10	3,62	1,01	8,0	4,77	1,33	35
		2.	1,0	22				7	7,91	2,21	8,5	12,47	3,49	23
10	2,7	1.	0	40	subcutan	0,1	9,0	10	4,38	1,23	6,5	3,85	1,08	36
		2.	0,6	33				10	5,01	1,40	7,0	4,57	1,28	38
		3.	6,6	50				10	4,06	1,14	10,0	6,11	1,71	30
11	2,7	1.	0	35	subcutan	0,1	11,0	10	3,74	1,05	5,8	3,39	0,95	40
		2.	14,4	33				10	4,18	1,17	6,5	3,89	1,09	38
12	2,9	1.	0	—	subcutan	0,1	11,4	10	3,70	1,04	—	—	—	—
		2.	2,7	—				10	4,58	1,28	—	—	—	—
13	1,9	1.	0	—	subcutan	0,1	7,4	—	—	—	9,0	5,30	1,47	—
		2.	2,5	—				—	—	—	10,0	8,84	2,47	—
14	3,1	1.	0	—	subcutan	40,2	15,5	10	4,21	1,18	8,0	4,64	1,30	42
		2.	42,6	—				10	5,85	1,64	7,0	6,66	1,86	39
		3.	67,2	25				10	4,52	1,26	6,0	4,07	1,14	37
15	2,0	1.	0	—	subcutan	40,5	10,0	8	3,72	1,04	4,0	2,63	0,74	—
		2.	42,0	—				10	6,52	1,83	7,0	6,22	1,74	—
16	3,3	1.	0	—	per anum	3,2	13,2	10	4,31	1,21	7,0	3,60	1,01	—
		2.	5,1	—				10	4,17	1,17	7,5	3,90	1,09	—
17	2,3	1.	0	—	per anum	2,6	12,0	10	5,12	1,43	8,5	5,11	1,43	—
		2.	5,1	—				10	5,40	1,51	9,0	5,50	1,54	—
18	1,5	1.	0	33	intratracheal	0,2	8,0	10	3,40	0,95	7,0	3,17	0,89	32
		2.	1,7	28				10	8,09	2,26	8,0	7,70	2,16	25
19	2,8	1.	0	—	intratracheal	0,2	15,0	—	—	—	6,0	3,45	0,97	—
		2.	1,4	—				—	—	—	6,0	4,80	1,34	—

Normalwerte.

Die erste Blutentnahme bei allen unseren Tieren geschah vor jedem Eingriff mit Ausnahme der zur Freilegung der Carotis erforderlichen Präparation, die stets ohne Narkose erfolgte. Wir gewannen auf diese Weise Blut von 26 unbehandelten Tieren, von denen sich 19 in normalem Zustande befanden, soweit bei

Tabelle III.

Calciuminhalationen.

Nr.	Körpergewicht	Aderlaß		Menge	Zeit der Inhalation von 80% $CaCl_2 + 6H_2O$	Blutanalyse		CaO	Serumanalyse		CaO	Hämatokrit Blutkörperchen
		Zahl	Zeit			angewandt	gefunden n/100-Thiosulfat		angewandt	gefunden n/100-Thiosulfat		
	kg		Std.	ccm	Std.	ccm	ccm	mg	ccm	ccm	mg	%
20	2,6	1.	0	36	1,3—2,0	10	3,08	0,86	6,0	3,90	1,09	47
		2.	2,2	43		10	5,35	1,49	7,0	5,43	1,52	38
21	2,8	1.	0	35	0,2—1,0	10	4,26	1,19	6,9	4,47	1,25	32
		2.	1,2	31		10	5,36	1,50	8,0	6,01	1,68	27
22	2,3	1.	0	29	0,2—1,3	10	3,86	1,08	7,5	4,51	1,26	40
		2.	1,8	37		10	5,08	1,42	6,5	5,22	1,46	34
23	2,1	1.	0	38	0,3—2,1	10	4,32	1,21	10,0	4,64	1,30	—
		2.	2,3	26		10	5,43	1,52	9,0	5,52	1,55	—
24	2,9	1.	0	41	0,2—1,5	10	3,48	0,97	8,5	5,15	1,44	41
		2.	1,9	31		10	4,40	1,23	7,5	4,92	1,38	37
25	2,8	1.	0	50	0,5—0,9	10	3,87	1,08	10,0	5,57	1,56	50
		2.	2,2	56		—	—	—	10,0	6,02	1,69	40
26	2,0	1.	0	30	2,0—3,6	10	3,74	1,05	7,5	4,28	1,20	35
		2.	3,7	—		10	4,80	1,34	8,5	5,40	1,51	25

Katzen, die eine Zeitlang in Käfigen gehalten werden, von einem solchen gesprochen werden kann. Mindestens waren eigentliche Krankheitszeichen an diesen Tieren nicht zu bemerken. 9 von ihnen waren nicht länger als 2 Wochen im Laboratorium gehalten und konnten wohl als völlig gesund betrachtet werden; von ihnen wurden 7 Werte für den Calciumgehalt des Blutes gewonnen (vgl. Tabelle IV); sie schwanken zwischen 9,6 und 12,3 mg CaO in 100 ccm; das Mittel beträgt 10,8 mg. Die Zahl von 11 mg darf als Normalwert angesehen werden, um so mehr, als auch der Durchschnitt aller Zahlen ohne Auswahl den Wert von 11,1 ergibt und 21 von 24 Werten zwischen 9,5 und 12,3 mg liegen. Zwei höhere Werte, nämlich 13,0 und 14,3 mg, fanden sich bei Tieren, die schon etwa 4 Wochen im Stall gehalten waren, ein abnorm niedriger Wert, nämlich 8,6 mg bei einem kranken Tier, aus dessen Nase sich dünnflüssiges, stinkendes Sekret entleerte. 3 trächtige Tiere wiesen normale Werte, nämlich 9,7 bis 12,2 mg, auf. Dies stimmt mit der Beobachtung von Jansen[1]) überein, der bei

[1]) Arch. f. klin. Med. 125, 168, 177ff.

schwangeren Frauen die gleichen Werte fand wie im gewöhnlichen Zustande. Über das Lebensalter unserer Tiere und dessen etwaigen Zusammenhang mit den Schwankungen des Kalkwertes können wir keine bestimmten Angaben machen; nach Jansen sinkt er beim Menschen von etwa 20 mg in der Säuglingszeit bis auf etwa 10 mg im Greisenalter[1]).

Bei Hunden, den nächst verwandten Versuchstieren, fanden Rona und Takahashi[2]) 11,1 und 12,5 mg CaO in 100 g Blut, also identische Werte (bei Pferden im Durchschnitt 10,7, bei Schweinen, Rindern und Hammeln übereinstimmend 8,8 mg); G. Bunge[3]) bestimmte in Rinderblut 7,2, in Schweineblut 7,0 mg), Abderhalden[4]) für eine Reihe von Pflanzenfressern 5 bis 7 mg; bei 4 Kaninchen ermittelten Allers und Bondi[5]) 7,4 mg, während Stransky[6]) wechselnde Werte zwischen 7,7 und 19 mg fand; bei Menschen mittleren Lebensalters stellte Jansen den Mittelwert von 11,9 mg fest.

Weniger einheitlich wie am Blut sind die am Serum erhobenen Befunde; bei den ausgelesenen 9 zweifellos gesunden Tieren wurden 6 Werte zwischen 15,2 und 16,6 mg, mit dem Mittel 16,1 mg CaO in 100 ccm Serum ermittelt (vgl. Tabelle IV). Unter den übrigen 15 „Normalwerten" finden sich Abweichungen bis herab zu 13,1 und hinauf zu 20,3 mg, während allerdings das Gesamtmittel wiederum 16,5 mg CaO beträgt.

An Hunden fanden Rona und Takahashi die Werte von 15,7 und 16,1, also ebenfalls die gleichen, wie sie bei Katzen die Regel sind.

---

[1]) A. a. O. S. 172, 175. — Vgl. auch Neurath, Zeitschr. f. Kinderheilk. 1, 1, 1911. — Dhéré und Grimmé, Compt. rend. Soc. Biol. 60, I, 1022, 1906.

[2]) Diese Zeitschr. 31, 336, 1911. — Die von Mac Callum und Voegtlin (a. a. O. S. 142) an Hunden ermittelten Werte von 17,1, 18,6 und 19,6 erscheinen uns sehr hoch, ebenso der nach J. Forster zu berechnende Wert von 19,8 (Zeitschr. f. Biol. 12, 1876, 466). — Die Zahlen von Dhéré und Grimmé (a. a. O.) scheinen uns für den Hund sehr niedrig (6,5 mg im Mittel). — Abderhalden gab für den Hund 5 bis 6, für die Katze 5 mg an, was wir gleichfalls für zu niedrig halten müssen. Vielleicht spielen Ernährungsverhältnisse eine große Rolle.

[3]) Zeitschr. f. Biol. 12, 191, 206ff., 1876.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 25, 65, 1898.

[5]) Diese Zeitschr. 6, 366, 1907.

[6]) Arch. f. experm. Pathol. u. Pharmakol. 78, 122, 1915.

Tabelle IV.

Normalwerte (1. Aderlaß).

Nr.	mg CaO in 100 ccm Blut	Serum	Blutkörperchen	Vom Gesamtkalk in den Blutkörperchen %	Bemerkungen
4	10,0	—	—	—	Gesunde Tiere, nicht länger als 2 Wochen im Stall. Mittel für Blut 10,8, für Serum 16,1.
5	9,6	—	—	—	
10	12,3	16,6	4,6	14	
11	10,5	16,4	0	—	
12	10,4	—	—	—	
13	—	16,4	—	—	
19	—	16,1	—	—	
23	12,1	15,2	—	—	
25	10,8	15,6	6,1	28	
2	11,5	16,6	2,8	9	Gesunde Tiere, doch länger als 2 Wochen im Stall.
3	11,8	20,3	0	—	
14	11,8	16,6	5,1	19	
15	13,0	18,4	—	—	
16	12,1	14,4	—	—	
17	14,3	16,8	—	—	
18	9,5	13,1	0	—	
21	11,9	18,1	0	—	
22	10,8	16,8	0	—	
26	10,5	16,0	0	—	
7	12,2	14,1	8,4	22	Trächtige Tiere. Mittel für Blut 10,7, für Serum 15,9.
9	10,1	16,7	0	—	
24	9,7	17,0	0	—	
1	10,4	17,1	0	—	Kranke Tiere (Nasenfluß).
8	10,7	19,0	0	—	
20	8,6	18,2	0	—	
6	10,9	14,5	6,8	29	Krank; Wunden und Verdickungen an den Pfoten.
Mittel:	11,1	16,5			

Kalkgehalt der Blutkörperchen.

Aus der größeren Konstanz des Calciumgehaltes im Blute gegenüber dem Serum ergibt sich, daß die Blutkörperchen eine beträchtliche Rolle bei Verteilung des Kalkes zwischen den Bestandteilen des Blutes spielen. Man darf nach allen bisher bekannten Tatsachen annehmen, daß die Blutkörperchen zum mindesten weniger Kalk in gleichem Volumen enthalten als das Serum[1]). Daraus wäre die Möglichkeit zu folgern, daß die gefundenen Schwankungen der Serumwerte einfach mit ent-

[1]) Vgl. u. a. Hamburger, Zeitschr. f. physikal. Chem. 69, 663, 1909.

sprechenden Schwankungen der Blutkörperchenzahl (Hämatokritwerte) zusammenhingen; dann müßten (bei einem gegebenen mittleren Werte für den Kalkgehalt des Gesamtblutes) in allen Fällen die Hämatokrit- und die Kalkwerte für das Serum umgekehrt proportional sein.

Betrachtet man nun diese beiden Werte bei unseren „Normalversuchen", so findet man dies tatsächlich in einigen Fällen ziemlich gut bestätigt, so z. B. bei Nr. 18 und 24, wo der Blutwert gleichermaßen auf $9^1/_2$ steht, die Hämatokritwerte für das Serum 68 und 59, die Kalkwerte 13,1 und 17,0 betragen. Das gleiche zeigen Nr. 2 und 3, wo der Blutwert übereinstimmend auf $11^1/_2$ steht, die Hämatokritwerte 63 und 55, die Kalkwerte für das Serum $16^1/_2$ und 20 betragen. Bei Nr. 3 zeigt sich die erwähnte Gleichsinnigkeit auch bei den späteren Aderlässen fortlaufend, wobei das Blut immer wäßriger wird, der Hämatokritwert im Laufe von 48 Stunden von 55 auf 60, 72, 75 steigt, gleichzeitig bei fast konstant bleibendem Blutkalkwert der Serumkalkwert von 20,3 auf 18,3, 14,7, 12,2 abfällt.

Neben solchen Beispielen findet sich aber auch eine ganze Anzahl weiterer, bei denen diese einfache Annahme nicht ausreicht, die viel größeren Schwankungen des Serumkalkwertes gegenüber dem Blutwert zu erklären; sondern man kommt um die Notwendigkeit nicht herum, auch starke Schwankungen des relativen Gehaltes der Blutkörperchen an Kalk anzuerkennen. Um nur ein Beispiel zu nennen, so sei auf Nr. 25 und 26 verwiesen, wo bei fast gleichem Blutkalkwert von $10^1/_2$ und Serumkalkwert von 16 mg die Hämatokritwerte für das Serum 50 und 65 betragen. Aus diesen Zahlen ergibt sich unmittelbar, daß bei Nr. 26 die Blutkörperchen frei von Kalk waren, bei Nr. 25 dagegen etwa 6 mg CaO pro 100 ccm enthalten haben. Gleiche Verhältnisse zeigen sich vielfach, wenn man aus den ermittelten analytischen Daten den auf die Blutkörperchen entfallenden Kalkbetrag berechnet, wie das in Tabelle IV geschehen ist. Schon Jansen hat durch direkte Analysen zweckmäßig gewaschener roter Blutkörperchen vom Menschen Schwankungen des Kalkgehaltes um 100% nachgewiesen, nachdem Rona und Takahashi bereits das gleiche durch indirekte Bestimmungen ermittelt hatten. Auch unsere Bestimmungen konnten mangels hinreichender Blutmengen nur auf indirektem Wege erfolgen, wobei die Fehlermöglichkeit ziemlich groß ist[2]).

[1]) Vgl. dazu auch Stransky, a. a. O. S. 135.

Ein Urteil über die Größe dieses Fehlers erhält man bei der Berechnung der sich ergebenden Werte dadurch, daß eine Anzahl von diesen, und zwar der 4. Teil, negativ ausfällt. Das Maximum dieser bestimmt fehlerhaften Abweichungen von 0 beträgt 2,5 (bei Nr. 2, berechnet als Milligramm CaO in 100 ccm Blutkörperchen); man darf also diese Größe als methodischen Fehler ansehen und alle Abweichungen bis zu diesem Betrage, die positiv sind, ebenfalls = 0 setzen, um so mehr als die Zahl der Fälle, in denen eine solche Abweichung vorkommt, mit der Zahl der negativen Abweichungen genau übereinstimmt. In der Tabelle IV sind daher alle diese Beträge als 0 aufgeführt; sie machen zusammen mit den genau 0 betragenden Werten 11 von 17, also $^2/_3$ aller Zahlen aus. Bei 5 von den übrigen 6 Werten kann kein Zweifel bestehen, daß sie einen meßbaren Gehalt der Blutkörperchen an Calcium erweisen, doch ist natürlich ein möglicher größter Fehler von $\pm$ 2,5 überall anzusetzen.

Es kann also nach Tabelle IV behauptet werden, daß bei einer ganzen Reihe von Tieren ohne vorherigen Eingriff die Blutkörperchen völlig kalkfrei gefunden werden, bei anderen dagegen bis zu mindestens 6 mg CaO in 100 ccm enthalten. Irgendeine erkennbare Regel für diese Schwankungen läßt sich vorläufig nicht ermitteln. Sie sind beträchtlich größer, als sie für andere Tierarten bisher bekannt geworden sind; nach den oben genannten Autoren fanden sich beim Rind 1,9 bis 3,9; beim Hammel 2,0 bis 4,1, beim Schweine 3,0 bis 4,7, beim Pferde 1,6 bis 3,2, beim Hunde 2,5 bis 3,0, beim Menschen 1,8 bis 3,4 mg CaO in 100 ccm Blutkörperchen. Bunge[1]) hatte aus je einer Analyse von Rinder- und Schweineblut erschlossen, daß die Blutkörperchen kalkfrei seien. Auch Abderhalden[2]) schloß sich für sämtliche untersuchten Blutarten ihm an. Diese Auffassung muß also in ihrer Allgemeinheit jetzt aufgegeben werden.

Bei diesen normalerweise schon vorhandenen Schwankungen des Kalkgehaltes in den Blutkörperchen und im Serum, die wiederum auf einen lebhaften Kalkaustausch zwischen Serum und Blutkörperchen hindeuten[3]), erscheinen die konstanteren

[1]) A. a. O. 210, 1876.

[2]) A. a. O.

[3]) Vgl. Jansen, Arch. f. klin. Med. **125**, 184. — Gleichartige Verhältnisse finden sich auch bei Traubenzucker, s. Michaelis und Rona, diese Zeitschr. **16**, 60; **18**, 75, Hollinger, ebenda **17**, 1, 1909; ferner beim Sulfation, s. Klikowicz, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. **1886**, 518, **531**; beim Chlorion, s. Snapper, diese Zeitschr. **51**, 53, 62, 1913; Arch. f. klin. Med. **111**, 441, 1913. — Vgl. auch Hamburger, Zeitschr. f. Biol. **26**, 414; **27**, 259, 1890; **28**, 405, 1891; Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1892. 513.

Werte für den Kalk des Gesamtblutes in erster Linie geeignet zur Begründung eines Urteils über die Bedeutung bestimmter Maßnahmen auf die Höhe des Blutkalkspiegels.

Wirkung des Aderlasses.

Zunächst war der Einfluß des jedesmal erforderlichen Aderlasses auf den Blutkalk zu prüfen, mußte er doch als ein erheblicher Eingriff für die Tiere betrachtet werden: Die jedesmal entnommene Blutmenge betrug durchschnittlich 13 und schwankte zwischen 7 und 22 ccm Blut pro Kilogramm. Das entspricht $^1/_{10}$ bis $^3/_{10}$, im Mittel $^1/_5$ des gesamten Blutes. Das erste Mal wurde ein solcher Aderlaß von allen Tieren ohne wesentliche Reaktion vertragen; beim zweiten und dritten Aderlaß am gleichen Tage trat meist Dyspnoe, zuweilen Seitenlage, selbst der Tod ein; die Empfindlichkeit der Tiere war ziemlich verschieden, und — um dies hier schon vorweg zu nehmen — ein durchgehender Unterschied zwischen normalen und Kalktieren nicht zu erkennen.

In diesem Zusammenhang sei auf die Erscheinung hingewiesen, daß der Anteil des Blutkörperchenvolumens am Gesamtblut auch schon bei Normaltieren große Schwankungen aufweist: Wir fanden 32 bis 50% Hämatokritwerte. Nach Aderlässen war keineswegs durchgehend eine wesentliche Verminderung des Blutkörperchenvolumens zu finden; häufiger zeigte sie sich, wie leicht erklärlich, nach mehrmaligen Aderlässen.

Zur Prüfung des Einflusses des Aderlasses auf den Blutkalk wurde an mehreren Kontrolltieren (ohne Kalkzufuhr) die Freilegung der Carotis und der Schluß der Wunde stets unter aseptischen Kautelen, sorgfältiger Enthaarung usw. vorgenommen, so daß bis zum zweiten, bzw. dritten und vierten Aderlaß keine Infektion störend dazwischen kam. Die Ergebnisse dieser Versuche finden sich auf Tabelle V. Sie zeigen, daß das im Laufe der ersten Stunde nach einem Aderlaß mit dem zweiten Aderlaß entleerte Blut einen deutlich erhöhten Calciumwert aufweisen kann, daß aber im Laufe der zweiten und dritten Stunde nach dem ersten Aderlaß nur geringfügige Schwankungen gegenüber dem Anfangsbefund ermittelt wurden. Die Erhöhung der Blutwerte im Laufe der ersten Stunde reicht in das Gebiet der Befunde hinein, wie sie zwar bei anscheinend gesunden Tieren angetroffen, aber doch nur mit Vorbehalt als

völlig „normal“ angesehen wurden (13 bis 14 mg). Dagegen ist es sehr bemerkenswert, daß die später verzeichneten Erhöhungen und Erniedrigungen des ursprünglichen Kalkwertes nach einem Aderlaß niemals die Grenzen überschritten, innerhalb deren die sicheren Normalwerte (bei erstmaligem Aderlaß) gefunden worden waren. Im Serum wurden nach Ablauf der ersten Stunde stets nur Erniedrigungen des Ausgangswertes gefunden.

Von Interesse ist auch hier der bereits oben erwähnte Fall Nr. 3, wo die Werte für das Serum bei mehrmaligem Aderlaß immer weiter absanken, obwohl zwischen zweitem und drittem, sowie drittem und viertem Aderlaß jedesmal 1 Tag lag; die Werte begannen mit dem höchsten und endeten mit dem niedrigsten, der überhaupt beim Serum gefunden wurde: 20,3 und 12,2. Der Blutwert blieb jedoch dauernd konstant (vgl. oben). Wichtig ist auch der Befund in Versuch 4, wo 3 Tage nach den ersten drei Aderlässen der vierte folgte, nach dem sofort Seitenlage und tiefe Atemnot eintrat, offenbar als Zeichen einer starken Verminderung der Blutmenge; der Kalkgehalt im Blute hatte jedoch eine normale Höhe (12,0).

Tabelle V.

Wirkung des Aderlasses.

Nr.	Aderlaß		mg CaO in 100 ccm			Differenz gegenüber dem vorhergehenden Aderlaß				
	Zahl	Stunden nach dem vorhergehenden Aderlaß	Blut	Serum	Blutkörperchen	Blut		Serum		Blutkörperchen
						mg	%	mg	%	mg
5	2.	0,5	13,4	—	—	+ 3,8	140	—	—	—
1	2.	0,7	13,0	17,6	—	<+ 2,6	<125	+ 0,5	103	—
3	2.	1,9	10,2	18,3	0	− 1,6	86	− 2,0	91	0
2	2.	2,5	12,3	15,3	5,3	+ 0,8	107	− 1,4	92	+ 2,4
4	2.	2,7	9,9	15,0	4,5	− 0,1	99	—	—	—
4	3.	3,7	12,3	14,7	9,0	+ 2,4	124	− 0,3	98	+ 4,5
5	3.	5,7	12,3	—	—	− 0,9	93	—	—	—
3	4.	21,0	10,8	12,2	6,6	− 0,7	94	− 2,5	83	+ 3,3
3	3.	25,1	11,5	14,7	3,3	+ 1,3	113	− 3,6	80	+ 3,3
4	4.	67,7	12,0	14,0	7,1	− 0,3	98	− 0,7	95	− 1,9

Kalkinjektionen.

Mit diesen Feststellungen war eine hinreichende Grundlage gegeben, die Erfolge einer Calciumzufuhr zu untersuchen. Es war die Frage zu beantworten, ob sich der Kalkspiegel des Blutes am lebenden Tier überhaupt für praktisch in Frage

kommende Zeiten so weit erhöhen läßt, daß die Erhöhung bestimmt nachweisbar ist, daß sie also die von selbst vorkommenden Schwankungen merklich übertrifft.

Vorteilhaft für die Entscheidung der Frage war die bereits erörterte Beobachtung, daß Aderlässe im Laufe der zweiten bis vierten Stunde nach dem vorausgehenden ersten Aderlaß im Serum stets eine Neigung zum Absinken des prozentischen Kalkwertes hatten erkennen lassen; jede auch geringfügige Erhöhung, die unter diesen Bedingungen gefunden wurde, ließ sich daher im Sinne einer künstlich erzeugten Kalkanreicherung im Blute verwerten.

Die Kalkzufuhr erfolgte stets nach einem vorhergegangenen Aderlaß, der zur Ermittlung der „Normalwerte" bei dem betreffenden Individuum diente. Sie wurden oben bereits im Zusammenhang besprochen.

Intravenöse Injektion.

Zunächst wurden intravenöse Injektionen vorgenommen, und zwar wurde krystallisiertes Calciumchlorid in Dosen von 0,12 bis 0,27 g pro Kilogramm angewandt (Versuche 6 bis 8). Die Injektionen erfolgten in 5%iger Lösung und langsam im Laufe von 3 bis 5 Minuten. Danach zeigte ein Tier (Nr. 7) starke, doch rasch vorübergehende Herzirregularität, ein anderes (Nr. 8) taumelnden Gang; ferner fiel es auf, daß bei der zweiten Blutentnahme in Versuch 9 — 26 Minuten nach Beendigung der Calciuminjektion — das Blut ganz außerordentlich rasch gerann, so daß ein nochmaliges Einbinden der Carotiskanüle erforderlich wurde. Dieses Tier 9 ging im Laufe der Nacht zugrunde, nachdem es Seitenlage, leichte Benommenheit, Taumeln und Zittern der Körpermuskulatur gezeigt hatte. Die beiden Tiere 6 und 7 starben im Anschlusse an den dritten Aderlaß.

Bei einem in den Tabellen nicht aufgenommenen Tier von 3 kg erlebten wir Tod durch Herzstillstand nach der langsamen, 2 Minuten dauernden intravenösen Injektion von 0,2 g krystallisierten Calciumchlorids pro Kilogramm. Diese Dosis liegt also jedenfalls schon im Bereich der lebensgefährlichen, zu therapeutischen Zwecken nicht mehr erlaubten Gaben; danach sind die erzielten Resultate zu beurteilen: Sie reichen bis an das Maximum heran, das noch mit dem Leben der Tiere vereinbar ist.

Die Ergebnisse der Blutanalysen finden sich auf Tabelle VI, die der Serumanalysen auf Tabelle VII. Aus den Zahlen geht hervor, daß das in das Blut eingespritzte Calcium nicht momentan wieder vollständig aus dem Kreislauf verschwindet, sondern mindestens $^1/_2$ Stunde auf einem Spiegel stehen bleibt, der etwa dem fünften Teil des eingeführten Calciums entspricht; der absolute Kalkgehalt des Blutes beträgt dabei das Doppelte bis Dreifache des normalen und liegt weit über den höchsten ohne Kalkzufuhr vorkommenden Werten. Im Laufe der folgenden Zeit sinkt dann der Kalkspiegel ziemlich rasch ab, so daß gegen Ende der zweiten Stunde nur noch eine Vermehrung auf etwa das $1^1/_2$ fache des Normalen erkennbar ist. Gegen Ende der dritten Stunde fanden wir im Gesamtblut wieder den Anfangswert vor der Kalkzufuhr, während gleichzeitig das Serum noch eine erhebliche Steigerung um etwa 50% aufwies; dies entspricht einem Abfall des Blutkörperchenkalkes von 6,8 mg CaO in 100 ccm auf Null. Im übrigen läßt sich eine Gesetzmäßigkeit in der Wanderung des Kalkes zwischen Plasma und Blutkörperchen schon deshalb nicht erörtern, weil die Ausgangsverhältnisse zu wechselnde sind und diesen gegenüber die Zahl der Versuche viel zu klein ist. In der siebenten und achten Stunde wurden in Blut und Serum gleichermaßen normale Werte (zwischen 91 und 101% der Ausgangswerte) gefunden.

In einer älteren Arbeit berichtet Rey[1]) über ähnliche Versuche an Hunden. Er schätzt nach einer eigenen Analyse (9,4 mg) und einigen anderen von Jarisch[2]) den Kalkgehalt des Hundeblutes durchaus richtig zu etwa 12 mg CaO in 100 ccm. Eine halbe Stunde nach Beendigung einer intravenösen Infusion von halbstündiger Dauer mit insgesamt 0,05 mg CaO pro Kilogramm in Form von Calciumacetat (entsprechend 0,20 g $CaCl_2 + 6H_2O$ pro Kilogramm) fand er 24 mg CaO im Blute, also eine Steigerung auf etwa das Doppelte. Diese Beobachtung stimmt mit den unseren gut überein. In einem anderen Versuche analysierte er das Blut eines Tieres, das zweimal, 4 und 5 Tage vorher, intravenös Calcium erhalten hatte, zusammen entsprechend einer Dosis von 0,49 g $CaCl_2 + 6H_2O$ pro Kilogramm; er fand 19 mg, also ebenfalls beträchtlich mehr als in der Norm. Nach unseren Ergebnissen müssen wir einen solchen Befund für höchst unwahrscheinlich halten und daher auch die Schlußfolgerung von Rey in Frage stellen, daß man nämlich imstande sei, „durch eine Kalkinjektion für eine ganze Reihe von Tagen den Kalkgehalt des Blutes erheblich zu steigern".

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 295, 304 ff., 1895.
[2]) Med. Jahrbuch d. Ges. d. Ärzte in Wien **1871**, 475; zit. nach Rey.

Tabelle VI.
Kalk im Blute nach Calciuminjektionen.

Nr.	Calciumchlorid: Anwendungsform	Calciumchlorid: Dosis $CaCl_2 + 6H_2O$ g pro kg	Aderlaß: Zahl	Aderlaß: Stunden nach erstem Aderlaß	Aderlaß: Stunden nach Calciumzufuhr	mg CaO in 100 ccm Blut	Differenz mg	Differenz %	Reduziert auf 0,2 g $CaCl_2 + 6H_2O$ pro kg %	Zuwachs i. Blute, % der Zufuhr
8	intravenös	0,19	2.	0,8	0,2	24,1	+ 13,4	225	232	19,3
9	„	0,27	2.	1,0	0,5	31,7	+ 21,5	311	256	22,8
7	„	0,13	2.	19,3	1,7	16,4	+ 4,2	134	153	8,9
6	„	0,12	2.	3,0	2,7	11,0	+ 0,1	101	102	0,3
7	„	0,13	3.	24,0	6,5	11,6	— 0,6	95	—	—
6	„	0,12	3.	8,0	7,7	10,1	— 0,8	93	—	—
10	subcutan	0,17	2.	0,6	0,5	14,0	+ 1,7	114	116	2,7
15	„	0,25	2.	42,0	1,5	18,3	+ 5,3	141	133	5,8
14	„	0,25	2.	42,6	2,4	16,4	+ 4,6	139	131	5,0
12	„	0,20	2.	2,7	2,6	12,9	+ 2,5	124	124	3,4
10	„	0,17	3.	6,6	6,5	11,4	— 0,9	93	—	—
11	„	0,20	2.	14,4	14,3	11,7	+ 1,2	114	114	1,6
14	„	0,25	3.	67,2	27,0	12,7	+ 0,9	108	106	1,0
16	peranal	$<$ 0,20	2.	5,1	2,0	11,8	— 0,3	98	—	—
17	„	$<$ 0,27	2.	5,1	2,6	15,1	+ 0,8	106	104	0,8
18	intratracheal	0,27	2.	1,7	1,6	22,7	+ 13,2	239	203	13,4

Tabelle VII.
Kalk in Serum und Blutkörperchen nach Calciuminjektionen.

Nr.	Calciumchlorid: Anwendungsform	Calciumchlorid: Dosis $CaCl_2 + 6H_2O$ g pro kg	Aderlaß: Zahl	Aderlaß: Stunden nach erstem Aderlaß	Aderlaß: Stunden nach Calciumzufuhr	Serum: mg CaO in 100 ccm	Serum: Differenz mg	Serum: Differenz %	Blutkörperchen: mg CaO in 100 ccm	Blutkörperchen: Differenz
8	intravenös	0,19	2.	0,8	0,2	38,6	+ 19,6	203	6,5	+ 6,5
9	„	0,27	2.	1,0	0,5	41,1	+ 24,4	246	0	0
7	„	0,13	2.	19,3	1,7	20,1	+ 6,0	143	5,5	— 2,9
6	„	0,12	2.	3,0	2,7	22,2	+ 7,7	153	0	— 6,8
7	„	0,13	3.	24,0	6,5	14,2	+ 0,1	101	0	— 8,4
6	„	0,12	3.	8,0	7,7	13,2	— 1,3	91	4,5	— 2,4
10	subcutan	0,17	2.	0,6	0,5	18,3	+ 1,7	110	7,1	+ 2,5
15	„	0,25	2.	42,0	1,5	25,0	+ 6,6	136	—	—
13	„	0,20	2.	2,5	2,4	24,8	+ 8,4	151	—	—
14	„	0,25	2.	42,6	2,4	26,6	+ 10,0	160	0	— 5,1
10	„	0,17	3.	6,6	6,5	17,1	+ 0,5	103	0	— 4,6
11	„	0,20	2.	14,4	14,3	16,8	+ 0,4	102	3,5	+ 3,5
14	„	0,25	3.	67,2	27,0	19,0	+ 2,4	114	0	— 5,1
16	peranal	$<$ 0,20	2.	5,1	2,0	14,5	+ 0,1	101	—	—
17	„	$<$ 0,27	2.	5,1	2,6	17,1	+ 0,3	102	—	—
19	intratracheal	0,27	2.	1,4	1,2	22,4	+ 6,3	139	—	—
18	„	0,27	2.	1,7	1,6	27,0	+ 13,9	206	9,8	+ 9,8

Über das Verhalten anderer anorganischer Ionen wissen wir ebenfalls, daß sie nach reichlicher intravenöser Zufuhr noch mehrere Stunden lang im Blute auf einem höheren Spiegel verharren können, während allerdings die Hauptmenge der eingeführten Substanz binnen einigen Minuten aus dem Blute verschwindet. Für das Sulfation wiesen das Klikowicz[1]) und Hamburger[2]) nach, für das Chlorion finden sich u. a. Angaben bei Wahlgren[3]) und Padtberg[4]).

Subcutane Injektion.

Mit subcutaner Injektion der gleichen 5%igen Lösung des wasserhaltigen Salzes wurden 6 Tiere (Nr. 10 bis 15) behandelt; die Dosen lagen zwischen 0,17 und 0,25 g (= 0,04 bis 0,06 g CaO) pro Kilogramm. Sichtbare Kalkwirkungen wurden bis zur Dosis von 0,20 g nicht beobachtet. Nach Magnus werden Dosen bis zu 0,21 g subcutan von Katzen noch gut ertragen, während er Dosen von 0,26 bis 0,34 g als „nahe der tödlichen Dosis" bezeichnet[5]). Von den beiden Tieren, die 0,25 g erhalten hatten, starb das eine (15) im Anschluß an den zweiten Aderlaß $1^1/_2$ Stunden nach der Kalkzufuhr; das andere (14) begann im Laufe der dritten Stunde Vergiftungssymptome zu zeigen: Seitenlage, Bewußtlosigkeit, die durch starke Reize zu unterbrechen war, späterhin bei wiederkehrendem Bewußtsein zunehmende Mattigkeit mit taumelnden Zitterbewegungen der Rumpfmuskulatur; dabei sanken Puls, Temperatur und Atmung unter die Norm; dieser Zustand hielt bis zum folgenden Tage an, wo das Tier unter dem dritten Aderlaß zugrunde ging. Bemerkenswert ist die Unabhängigkeit dieser zentral nervösen Symptome von dem Kalkgehalt des Blutes oder Plasmas, der zwar im Anfang auf etwa das $1^1/_2$fache der Norm gestiegen, später aber wieder bis nahe zum Ausgangswert, jedenfalls aber in den Bereich normal vorkommender Werte zurückgekehrt war (vgl. Tabelle IV, VI und VII).

Die Übersicht über die ganze Versuchsreihe auf Tabelle VI und VII ergibt ein allmähliches Anwachsen des Blut- und Serumkalkes: Nach $^1/_2$ Stunde fanden wir eine Vermehrung um etwa

---

[1]) Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1886, 518.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 27, 259, 1890.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 117, 1909.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 63, 60, 1910.

[5]) Persönliche Mitteilung nach unveröffentlichten Versuchen.

10%, die um so bedeutungsloser ist, als ja der Aderlaß als solcher nach dieser Zeit zu einer Steigerung führen kann, nach $1^1/_2$ Stunden um 40%; nach $2^1/_2$ Stunden war dieser Wert im Blute noch erhalten oder etwas vermindert, im Serum dagegen noch angewachsen. Dementsprechend mußte der Kalkgehalt der Blutkörperchen auf 0 abgesunken sein; vielleicht ist die gleichartige Beobachtung zu gleicher Zeit nach intravenöser Zufuhr kein Zufall. Nach $6^1/_2$ Stunden und später war keine Änderung des Blut- und Serumkalkes über die Grenzen hinaus zu finden, innerhalb deren sich die natürlichen Schwankungen bewegen.

Auf Grund dieser Befunde läßt sich also aussprechen, daß auf die subcutane Einspritzung subletaler Kalkdosen eine ziemlich gleichmäßige Steigerung des Blutkalkes folgt, die zwischen der ersten und dritten halben Stunde ihren Höhepunkt erreicht, der mindestens 1 Stunde und nicht länger als 4 bis 5 Stunden festgehalten wird. Der Betrag dieser Erhöhung entspricht etwa 40% des vorherigen Kalkwertes im Blute und etwa 5% der eingespritzten Kalkmenge; man findet also in diesem Stadium so viel Kalk im Blute, wie man bei gleichmäßiger Verteilung des Blutes auf sämtliche Organe des Körpers erwarten müßte.

Auch hier wieder ist eine Mitteilung von Rey[1]) zu erwähnen, der zufolge er 3 Tage nach einer subcutanen Kalkinjektion entsprechend 0,24 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$ pro Kilogramm 19 mg CaO in 100 ccm Blut bestimmte. Wir möchten auch für diesen Fall bezweifeln, daß der hohe Wert mit der Kalkinjektion in Zusammenhang steht. Vielleicht hat es sich um sehr junge Tiere gehandelt, da man die von Jansen beim Menschen ermittelten Verhältnisse wohl auf den Hund übertragen darf[2]); er fand bei Kindern von 2 bis 3 Jahren 18 bis 17 mg CaO in 100 ccm Blut[3]).

Neurath fand am Hunde nach wesentlich kleinerer, aufs Kilogramm nicht genau angegebenen subcutanen Dosis einen Anstieg des Blutkalkes nur nach 2 Stunden; nach 4 Stunden Abfall, nach 6 bis 10 Stunden normale Werte[4]).

Eine graphische Darstellung unserer Analysenzahlen nach intravenösen und subcutanen Kalkzufuhren gibt die Figur 1.

---

[1]) A. a. O.
[2]) Vgl. Dhéré und Grimmé, a. a. O.
[3]) Arch. f. klin. Med. **125**, 175.
[4]) A. a. O. S. 25.

Zufuhr per anum.

In zwei Versuchen (16 und 17) wurde Calciumchlorid per anum in den Mastdarm injiziert, wiederum in 5 % iger Lösung des krystallwasserhaltigen Salzes; die Volumina betrugen 12 und 13 ccm, die Dosen 0,20 und 0,27 g pro Kilogramm. Die Hauptmenge der Injektionsflüssigkeit wurde gut gehalten, wenn auch geringe Befeuchtung des Käfigbodens sowie der Haare des Schwanzes und der Hinterpfoten 2 Stunden nach der Injektion bemerkt wurde; diese Befeuchtung war geringer bei dem Tier, das die höhere Dosis erhalten hatte (Nr. 17).

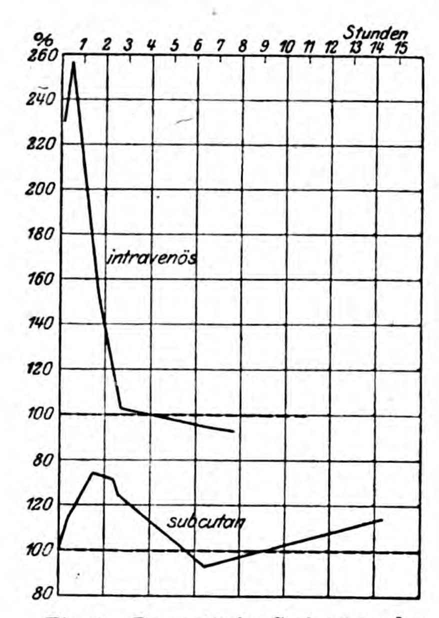


Fig. 1. Prozentische Steigerung des Blutkalkes nach Kalkzufuhr.

Wie die Analysen zeigen (vgl. Tabelle VI und VII), war eine Zunahme des Blutkalkes im Versuch 16 nicht festzustellen; im Versuch 17 war sie geringfügig und entsprach nur 6 % des Ausgangswertes; immerhin ist diese Zunahme wohl als reell anzusehen, da der Ausgangswert von 14,3 schon sehr hoch war und daher eher eine Senkung als eine Steigerung zu erwarten gewesen wäre. Die Serumwerte zeigen keinerlei Abweichung vom Ausgangswert. Gegenüber den Befunden, wie sie bei gleichen subcutanen Dosen nach gleichen Zeiten erhoben wurden, ergibt sich das Resultat, daß der Kalk aus dem Dickdarm nur langsam und wohl auch unvollständig resorbiert wird — ein Resultat, das mit den bisher bekannten Erfahrungen über die langsame Resorption innerlich verabreichten Kalkes und über die Ausscheidung von Kalk in den Dickdarm gut übereinstimmt[1]).

[1]) Vgl. dazu u. a. J. Forster, Arch. f. Hygiene 2, 385, 1884. — Raudnitz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 343, 1893; ferner Rüdel, ebenda **33**, 79, 1894. — Rey, a. a. O.

Zufuhr per tracheam.

Als eine Resorptionsfläche von außerordentlicher Aufsaugungsfähigkeit ist seit langer Zeit die Schleimhaut der Luftwege bekannt[1]). Wir prüften daher auch für das Calcium diesen Applikationsweg. In zwei Versuchen (18 und 19) wurde 5 %ige Lösung von krystallisiertem Chlorcalcium langsam im Laufe einiger Minuten in den unteren Abschnitt der freigelegten Luftröhre injiziert; das Volumen der Flüssigkeit betrug 5 ccm pro Kilogramm Tier, die Dosis 0,27 g des Salzes. Während der Injektion pendelte bei Versuch 18 zeitweilig etwas Schaum mit dem Atemrhythmus in der Luftröhre hin und her; auch erfolgten einige Schluckbewegungen, so daß es nicht ausgeschlossen ist, daß ein kleiner Anteil der Injektionsflüssigkeit den Weg durch die Glottis und die Speiseröhre in den Magen gefunden hat. Die Hauptmenge aber blieb im Bronchialbaum, wo sie ebenso wie im Versuch 19 sehr rasch ohne Störung verschwand. Deutliche Vergiftungssymptome wurden nicht bemerkt, doch starben beide Tiere während der zweiten Blutentnahme, wobei die venöse Farbe des Carotisblutes sehr auffällig war; im Versuch 19 floß überdies das Blut nur tropfenweise aus der Arterie aus.

Die Analysenbefunde (vgl. Tabelle VI und VII) bestätigten die Erwartung insofern, daß $1^1/_2$ Stunden nach der Injektion (Versuch 18) eine Steigerung des Blut- und Serumkalkes gefunden wurde, die weit größer war, als bei subcutaner Zufuhr gleicher Dosen; nicht nur die relativen Werte, sondern auch der absolute Wert für den Blutkalk übertrifft weit die entsprechenden nach subcutaner Zufuhr und reicht in die Größenordnung hinein, wie sie nach intravenöser Einspritzung gefunden wurde. In Versuch 19 erfolgte die Blutentnahme bereits im Anfang der zweiten Stunde nach der Kalkeinspritzung; es wurden nur die Serumwerte bestimmt, die eine Vermehrung des Kalkes erkennen lassen, die deutlich geringer ist und nur die entsprechende Größe nach subcutaner Zufuhr erreicht. Offenbar spielen individuelle Unterschiede der Resorptionsfähigkeit bei

---

[1]) Wasbutzky, Inaug.-Diss., med. Königsberg 1879. — Peiper, Zeitschr. f. klin. Med. 8, 293, 1884. — Sehrwald, Arch. f. klin. Med. 39, 180ff., 1886.

diesen Befunden mit; im ganzen beweisen sie jedoch auch für das Calciumion, daß es von der Tracheobronchialschleimhaut schneller resorbiert wird als vom subcutanen Gewebe, geschweige denn vom Magen-Darmkanal.

Inhalation.

Die im vorigen geschilderte Feststellung ließ es als aussichtsreich erscheinen, durch Inhalation von Calciumlösungen den Kalkgehalt des Blutes ebenso hoch zu treiben, wie durch subcutane Injektion, und diese Erhöhung für die Dauer der Inhalation und eine Zeitlang darüber hinaus festzuhalten. Dann wäre zu erwarten, daß dieselben therapeutischen Wirkungen mit der gleichen Geschwindigkeit eintreten würden wie bei subcutaner Zufuhr, doch ohne die bei dieser Anwendungsform so leicht störend und verhängnisvoll wirkenden Gewebsschädigungen an der Applikationsstelle. Denn auf der großen und rasch resorbierenden Schleimhautfläche der Atemwege werden selbst bei Inhalation der konzentriertesten Lösung in einem gegebenen Augenblick niemals solche Kalkmengen die Flächeneinheit treffen, wie sie in einem lokalen Depot im subcutanen oder im Muskelgewebe auf die Gewebselemente einwirken. Übrigens wurde die Inhalation von Chlorcalcium zu therapeutischen Zwecken schon von Zuelzer vorgeschlagen[1]).

Andererseits darf bei solchen Inhalationsversuchen das quantitative Moment nicht außer Betracht bleiben: Es ist für eine aussichtsvolle Therapie natürlich notwendig, daß auch wirklich in begrenzter Zeit wirksame Mengen in den Körper gelangen. Dies ist bei Calciumsalzen und ähnlichen Substanzen, die erst in Grammdosen wirksam sind, nur möglich durch Anwendung sehr konzentrierter Lösungen.

Denn eine feine Zerstäubung, wie sie die Inhalation erfordert, ist notwendigerweise damit verknüpft, daß in der Zeiteinheit nur eine geringe Menge Lösung in Tröpfchennebel verwandelt wird, und daß dieser in einer großen Luftmenge verteilt wird; mit jedem Atemzug kann also nur ein recht kleiner Teil der wirksamen Lösung in die Luftwege eingezogen werden. Würde man die Tröpfchen und damit die Menge der in Nebel

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. **1911**, 285.

verwandelten Lösung vergrößern, so würde sehr bald die Grenze erreicht sein, wo die Tröpfchen sich bereits in der Mundhöhle und im Rachen niederschlagen und daher nicht mehr auf die rasch resorbierende Schleimhaut der Atemwege gelangen würden.

Wir verwendeten für unsere Inhalationsversuche eine Lösung von $80^0/_0$ des krystallwasserhaltigen Calciumchlorids in Wasser und zerstäubten diese mit Hilfe der bewährten Inhalationsapparate nach Tancré und nach Spieß-Dräger; die Zerstäuber wurden mit Druckluft (Nr. 22 und 26) oder Sauerstoff aus Stahlzylindern betrieben. Der vorgeschaltete Druck betrug 0,3 bis 2 Atmosphären.

Die Dosierung inhalierter Substanzen bietet stets erhebliche Schwierigkeiten. Auch bei den besten Zerstäubern schwankt die Größe der einzelnen Tröpfchen des Flüssigkeitsnebels so stark, daß einerseits vereinzelte große Tröpfchen von dem Strom der Einatmungsluft nicht weit mitgenommen werden und z. B. die Glottis nicht passieren, daß andererseits aber zahlreiche kleinste Tröpfchen infolge ihrer leichten Beweglichkeit den Bronchialbaum mit der Ausatmung wieder verlassen, ohne sich niederzuschlagen, wie zuweilen — besonders bei öligen Lösungen — an der nebligen Beschaffenheit der Exspirationsluft erkennbar ist. Man hat also damit zu rechnen, daß von der gesamten eingeatmeten Menge ein gewisser Bruchteil für die Resorption von der Tracheobronchialschleimhaut aus verloren geht. Wie groß dieser Bruchteil ist, läßt sich im Einzelfall ohne sorgfältige physikalische Untersuchung des gebildeten Inhalationsnebels nicht genau ermitteln; es besteht aber hinreichender Anlaß, ihn bei den als bewährt befundenen Geräten als klein anzusetzen. Wir suchten in unseren Versuchen diesen Bruchteil so klein als irgend möglich zu gestalten, indem wir prinzipiell die Tracheotomie vornahmen, so daß also der gesamte Nebel wenigstens ohne Verlust in die Luftwege eindringen mußte. Die Trachealkanüle wurde direkt durch eine möglichst kurze und weite Schlauchleitung mit der Ausgangsöffnung des Inhalationsapparates in Verbindung gebracht. Diese Schlauchleitung war stets möglichst nach aufwärts gerichtet, so daß alle vor der Trachea etwa niedergeschlagenen Tropfen in den Zerstäuber zurückfließen konnten. Die Tiere waren entweder in Rückenlage aufgespannt (Nr. 22 und 26) oder

saßen (meist) in normaler Haltung in einem Kasten, der durch ein Loch nur den Kopf und den oberen Halsteil mit der Kanüle freigab. Der von den Zerstäubern gelieferte Luftstrom war wesentlich größer als der Bedarf der Tiere an Atemluft. Eine zweite Öffnung der Trachealkanüle diente zum Entweichen der überschüssigen, mit Inhalationsnebel erfüllten Luft, sowie zum Ausgleich der Druckschwankungen bei der Atmung der Tiere. Diese „Auspuff"-Öffnung befand sich in der Verlängerung der Luftröhre, während die zuführende Öffnung senkrecht dazu seitlich angebracht war. Die Tiere atmeten also gewissermaßen aus einem am oberen Ende ihrer Luftröhre vorbeistreichenden, dauernd mit Inhalationsnebel erfüllten Luftstrom. Die Größe der Inhalation war demnach aus der Atemgröße zu berechnen, wenn durch Messung des im Versuch verbrauchten Luft- oder Sauerstoffvolumens und der verstäubten Lösungsmenge die Konzentration des gelieferten Luftstroms an Nebeltröpfchen ermittelt war.

Diese beiden Messungen wurden stets vorgenommen. Am einfachsten ließ sich die Menge der zerstäubten Lösung ermitteln, indem anfangs in den feuchten Zerstäuber ein abgemessenes Quantum eingefüllt und am Ende des Versuchs der übriggebliebene Rest im Meßzylinder zurückgemessen wurde; die Genauigkeit dieser Messung war nicht sehr groß, aber hinreichend, da es sich stets um Mengen von mehreren (6 bis 14) Kubikzentimetern handelte und der Fehler kaum mehr als 0,2 ccm betrug. Für die Bestimmung des verbrauchten Gasvolumens wurde im ersten Versuche (22) nur die Ablesung des Bombendruckmanometers verwendet und aus dessen Abfall durch Multiplikation mit dem Bombeninhalt die entwichene Gasmenge berechnet; da aber Zweifel an der Exaktheit der Manometerangaben auftauchten, wurde weiterhin noch ein zweiter Weg eingeschlagen: Nach Beendigung des Inhalationsversuchs wurde das Tier von der Zerstäuberapparatur gelöst und an seiner Stelle eine Gasuhr vorgeschaltet, mit deren Hilfe nun bei unveränderter Anordnung das in der Zeiteinheit ausströmende Gasquantum gemessen wurde. Bei Anwendung des Spieß-Dräger-Verneblers stimmten die auf beiden Wegen ermittelten Werte auf 5 % miteinander überein, was als hinreichend genau angesehen werden kann. Bei Anwendung des Tancré-Apparates

wurden jedoch die Gasuhrwerte stets erheblich kleiner gefunden als die aus dem Abfall des Bombendrucks berechneten (vgl. Tabelle VIII). Dies darf wohl damit in Zusammenhang gebracht werden, daß die Strömungsgeschwindigkeit des Gases bei diesem Apparat $2^1/_2$ bis 3 mal größer war, daher ein merklicher Anteil Energie durch den Antrieb der Gasuhr (Reibung) verzehrt wurde und infolgedessen weniger Gas durch die Gasuhr hindurch ins Freie strömte als bei unbehindertem Austritt an der Öffnung der Trachealkanüle. Außerdem kommt vielleicht bei dem schnelleren Strom auch eine ungenügende Wiedererwärmung des beim Entweichen aus dem komprimierten Zustande stets abgekühlten und daher auf kleineres Volumen reduzierten Gases in Betracht. Aus diesen Gründen wurde die Angabe des Bombendrucks für zuverlässiger gehalten und zur Berechnung verwendet. In Versuch 26, wo Druckluft aus der Institutsleitung bei niedrigem Druck und infolgedessen auch langsamer Stromgeschwindigkeit benutzt wurde, erfolgte dagegen die Berechnung auf Grund einer Gasuhrmessung.

In diesem einen Versuche kam der Tancré-Apparat mit einfacher Kugel zur Anwendung (sonst stets mit Doppelkugel). Da bei dieser Anordnung verhältnismäßig viel große Tropfen und daher auch ein großes Zerstäubungsquantum geliefert werden, wurde eine Rückgewinnung dieses leicht niedergeschlagenen Anteils des gebildeten Nebels erstrebt: Die abführende Öffnung der Trachealkanüle wurde mit einer wiederum nach abwärts gerichteten Rohrleitung versehen, aus der die kondensierte Flüssigkeit in einen Meßzylinder abtropfen konnte; ihre Menge betrug 4,2 von 7,4 ccm verstäubter Flüssigkeit, also 57%. Die Trachealkanüle bildete in diesem Versuche die Mitte und den obersten Punkt einer längeren Rohrleitung.

Weit unzuverlässiger als die Ermittlung der Zusammensetzung des zur Atmung gelieferten Luftstroms war die Schätzung der von dem Tiere eingeatmeten Menge. Zwar ist die durchschnittliche Atemgröße von Katzen ziemlich gut bekannt; sie kann zu 0,5 l pro Kilogramm Körpergewicht und Minute geschätzt werden. Mehrfach wurde auch für das Einzeltier diese Größe nach Beendigung der Inhalation im Dreser-Jacobjschen Apparat[1]) gemessen; dabei fanden sich pro Kilogramm und Minute folgende Werte: 0,33 (Nr. 25), 0,45 (Nr. 24), 0,61 (Nr. 23), 0,50 l (Nr. 20). Das Mittel dieser Zahlen von 0,47 l bestätigt

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 26, 253; 27, 153, 1890.

also auch in diesen Versuchen die Richtigkeit des genannten Schätzungswertes. Zugleich aber zeigt sich aufs deutlichste die große Schwankungsbreite, die bei verschiedenen Individuen vorkommt. Viel beträchtlicher aber sind noch die Schwankungen, die bei ein und demselben Individuum unter verschiedenen Umständen gefunden werden, und es ist durchaus unwahrscheinlich, daß die nach den Inhalationsversuchen gemessenen (oder geschätzten) Werte einen Maßstab für die Atemgröße während der Inhalation abgeben können (bei der die direkte Messung nicht möglich war). Denn die Abkühlung und wohl auch der trotz der weiten Ausgangsöffnung der Trachealkanüle auf die Lungen wirkende Druck, die beide durch den vorbeiblasenden Luftstrom erzeugt wurden, blieben auf die Atmung sichtlich nicht ohne Einfluß. Sie war während der Inhalation stets ziemlich tief und angestrengt, zuweilen abnorm langsam, wie z. B. in Versuch 21, zuweilen rasch, wie in Versuch 26; in diesem Versuch ist der Strömungsseitendruck auf die Lungen infolge der jenseits der Trachealkanüle angeschlossenen Rohrleitung zweifellos besonders hoch gewesen. Die Dosierung bei allen Tieren ist daher höchst ungenau und die Werte für die inhalierte Chlorcalciummenge (auf Tabelle VIII und IX), die auf Grund der gemessenen oder nach der oben genannten Zahl geschätzten Atemgröße berechnet wurden, dürfen von vornherein nur als annähernde betrachtet werden und können im Einzelfall gewiß Fehler um 100% nach oben oder nach unten aufweisen. Dabei ist der oben schon berührte Anteil des Inhalationsnebels noch nicht einmal berücksichtigt, der wieder exhaliert wird und der gewiß mit Tempo und Tiefe der Atmung wechseln kann.

Immerhin geben die angeführten Zahlen einen Begriff von der Größenordnung, die in Betracht kommt, und dürfen wohl auch so weit zu Schlußfolgerungen benutzt werden, daß die stets größeren Werte, die sich bei Verwendung des Spieß-Dräger-Apparates ergaben, tatsächlich eine höhere Dosierung gegenüber dem Tancré-Apparat anzeigen (vgl. Tabelle IX). Dadurch erklären sich auch zwanglos die durchschnittlich höheren Werte, die bei der Inhalation nach Spieß-Dräger gegenüber Tancré für den Blut- und Serumkalk ermittelt wurden. Die höhere Dosierung im Spieß-Dräger-Apparat hat ihren Grund in

Tabelle VIII.

Inhalationsversuche.

Nr.	Haltung des Tieres[1])	Verwendetes Gerät[2])	Druck vor dem Zerstäuber, Atmosphären	Dauer der Inhalation Min.	Verbrauchte Liter Luft oder Sauerstoff, berechnet aus: Bombendruck	Gasuhrmessung	Verbrauchte ccm Lösung 80% $CaCl_2 + 6H_2O$	Volumen der Atmung (Liter): geschätzt	„gemessen"	Menge der eingeatmeten Lösung etwa ccm
20	S.	Sp.	2,0	44	400	380	5,9	57	57,0	0,84
21	S.	Sp.	2,0	50	480	470	7,8	70	—	1,14
22	R.	Sp. d.	2,0	68½	1700	—	14,0	79	—	0,65
23	S.	T.	1,5	50	1500	(1320)	9,5	(53)	64,0	0,41
24	S.	T.	1,5	75	2800	(1935)	13,1	(107)	96,0	0,45
25	S.	T.	1,0	25	750	(500)	6,6	(35)	22,5	0,20
26	R.	T. e.	0,3	90	—	820	7,4	88	—	0,79

Tabelle IX.

Blutkalk nach Inhalation.

Nr.	Dosis Calciumchlorid $CaCl_2 + 6H_2O$ g pro kg, etwa	Zweiter Aderlaß, Stunden nach erstem Aderlaß	Beginn der Inhalation	Ende der Inhalation	Blut: mg CaO in 100 ccm	Blut: Differenz mg	Blut: Differenz %	Serum: mg CaO in 100 ccm	Serum: Differenz mg	Serum: Differenz %	Blutkörperchen: mg CaO in 100 ccm	Blutkörperchen: Differenz mg
20	0,26	2,2	1,0	0,2	15,0	+ 6,4	174	21,7	+ 3,5	119	4,0	+ 4,0
21	0,33	1,2	1,0	0,2	15,0	+ 3,1	126	21,0	+ 2,9	116	0	0
22	0,23	1,8	1,6	0,4	14,2	+ 3,4	131	22,5	+ 5,7	134	0	0
23	0,15	2,3	1,0	0,2	13,0	+ 0,9	107	17,2	+ 2,0	113	—	—
24	0,12	1,9	1,7	0,4	12,8	+ 3,1	132	18,4	+ 1,4	108	3,4	+ 3,4
25	0,06	2,2	1,8	1,3	—	—	—	16,8	+ 1,2	108	—	—
26	0,33	3,7	1,8	0,3	13,4	+ 2,9	128	17,8	+ 1,8	111	0	0

dem geringeren Luftverbrauch für die Zerstäubung der Volumeneinheit Lösung; dadurch ist die Einatmung einer höheren Nebelkonzentration möglich. Tatsächlich sind die pro Zeiteinheit

[1]) S. = sitzend; R. = in Rückenlage.

[2]) Sp. = Spieß-Dräger-Apparat, einfach; Sp. d. = Spieß-Dräger-Apparat, doppelt (mit zwei parallel geschalteten Zerstäubern); T. = Tancré-Apparat mit Doppelkugel; T. e. = Tancré-Apparat mit einfacher Kugel.

inhalierten Calciummengen im großen und ganzen dem Luftverbrauch pro Volumeneinheit zerstäubter Lösung umgekehrt proportional. Eine gewisse Ausnahmestellung nimmt Versuch 26 ein, bei dem mit einer verhältnismäßig gröberen Zerstäubung gearbeitet wurde.

Die Gesamtheit der Werte auf Tabelle IX liefert vor allem den wichtigen Nachweis, daß es tatsächlich gelingt, durch Inhalation den Kalkwert des Blutes zu erhöhen; diese Erhöhung zeigt sich — wenigstens bei Verwendung des Spieß-Dräger-Gerätes — nicht nur relativ gegenüber den jeweiligen Ausgangswerten, sondern auch absolut insofern, als sie über die höchsten normal vorkommenden Werte hinausgeht. Sie erreicht zwar nicht ganz die Beträge, die wir bei subcutaner Anwendung gefunden haben, berührt aber deren Gebiet. Dagegen bleibt sie beträchtlich unterhalb des entsprechenden Wertes nach intratrachealer Injektion. Die geringere Erhöhung bei den Tancré-Versuchen ist ebenfalls als eine greifbare Wirkung der Inhalation anzusehen; denn die zweite Blutentnahme fand stets zu solchen Zeiten nach der ersten statt, wo wir bei Normalversuchen Erniedrigung der Serumkalkwerte gefunden hatten, während sie hier ausnahmslos gestiegen sind.

In einer Reihe dieser Inhalationsversuche belehrte uns auch das Auftreten von Calciumwirkungen darüber, daß größere Kalkmengen resorbiert waren. Auch hier wieder zeigte es sich, daß die Höhe des Blutkalkspiegels keinen Maßstab für diese Kalkwirkungen bildet.

Im Versuch 22 beobachteten wir am Tage nach der Inhalation, etwa 18 Stunden später, starke Bewußtseinstrübung mit halber Erweckbarkeit, Zitterbewegungen, Unfähigkeit zu laufen infolge starken, zwangsmäßigen Taumelns. Ein Einschnitt ins Ohr lieferte keinen einzigen Tropfen Blut, während aus einem Schnitt in die Zunge arteriell gefärbtes Blut quoll; das Tier war 24 Stunden nach der Inhalation tot. Das Tier 21 starb unter zunehmender Mattigkeit etwa 12 Stunden nach der Inhalation. Bei Nr. 23 und 26 zeigte sich während des zweiten Aderlasses, 10 bis 15 Minuten nach Ende der Inhalation, die Erscheinung, daß das Blut nur mangelhaft, tropfenweise und spärlich ausfloß, um schließlich bei gleichzeitigem Tod der Tiere ganz zu stocken; dabei schlug das Herz nach dem Atemstill-

stand noch längere Zeit kräftig und regelmäßig weiter. Diese Beobachtungen, die auf einen abnorm niedrigen Blutdruck[1]) deuten, stimmen mit den gleichsinnigen nach intratrachealer Injektion von Chlorcalcium überein (vgl. Versuch 18 und 19). In den Versuchen 20, 24 und 26 waren keinerlei Vergiftungssymptome zu bemerken; auch der zweite Aderlaß lieferte rasch und reichlich Blut und wurde glatt ertragen; das Tier 24 war trächtig. Die Zahlen für den Blutkalk der Tiere mit und ohne Vergiftungssymptome liefern übereinstimmend den Mittelwert 13,9; für die prozentische Erhöhung dieses Wertes gegenüber dem vorhergehenden Normalwert liegt das Mittel bei den symptomfreien Tieren mit 153 sogar erheblich höher als bei den deutlich vergifteten mit 123.

Von sonstigen Erscheinungen ist noch zu erwähnen, daß während der Inhalation die Nase, Schnauze und Mundschleimhaut der Tiere eine blasse weißliche Farbe annahmen, die später wieder der normalen Rosafärbung Platz machte; sie ist wohl im wesentlichen auf die Wirkung der Abkühlung durch den vorbeiblasenden Luftstrom zu beziehen. Im Versuch 23, in dem das Tier 10 Minuten nach Ende der Inhalation unter dem Aderlaß starb, wurde die Luftröhrenschleimhaut leicht gerötet, die der Bronchien blaß und reizlos gefunden. Sonst waren niemals Veränderungen an den Atemwegen oder an den Lungen festzustellen.

Der Grad der aufgetretenen Kalkwirkung läßt ein Urteil über die Menge resorbierten Inhalationsnebels zu. Trotz der vorkommenden individuellen Unterschiede kennen wir von den anderen Anwendungsformen des Calciumchlorids her ungefähr die Grenze der tödlichen Wirkung; sie liegt in der Nähe von 0,25 bis 0,30 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$ pro Kilogramm Tier (vgl. oben S. 201). Danach würden die berechneten Dosen mit den beobachteten Wirkungen in den Versuchen 21 und 22 recht gut übereinstimmen; diese Versuche sprechen also dafür, daß der bei der Exspiration wieder nach außen entleerte Anteil des Inhalationsnebels tatsächlich sehr klein ist (vgl. oben S. 206). Auch die Zahlen der Versuche 24, 25 und 26 ordnen sich den sonstigen Erfahrungen gut ein. Dagegen erscheint die berech-

[1]) Blutdrucksenkungen nach Kalkinjektionen beobachteten schon Fleisher, Hoyt und Loeb, Journ. of experim. Medicine **11**, 642, 1909; Chiari und Fröhlich, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 214, 1911; F. Haffner, Arch. internat. de Pharmacodyn. **23**, 1913, sowie Diss. München 1913; J. Cazzola, Arch. di Fisiol. **11**, 89, 1913, zit. nach Malys Jahresber. d. Tierchem. **43**, 1524, 1913.

nete Dosis im Versuch 20 etwas höher, im Versuch 23 etwas niedriger als der Wirkung entspricht. Im ganzen aber darf man aus dem Vergleich der für die einverleibte Dosis berechneten Zahlen mit den beobachteten Wirkungen den Schluß ziehen, daß trotz der besprochenen Schwierigkeiten (vgl. oben S. 208) eine ziemlich gute Berechnung und damit auch Beherrschung der bei der Inhalation einverleibten Dosen möglich ist.

Auffallenderweise zeigen gerade die beiden letztgenannten, bei diesem Vergleich weniger gut stimmenden Versuche Besonderheiten bezüglich des Blutkalkes: Im Versuch 20 war der Ausgangswert vor der Inhalation abnorm niedrig, im Versuch 23 ziemlich hoch. Vielleicht im Zusammenhang damit erhöhte sich im Versuch 20 der Blutkalk ganz erheblich, im Versuch 23 nur äußerst wenig. Im zweiten Falle ist also ein verhältnismäßig größerer Anteil des einverleibten Kalkes nicht im Blute zu finden, vermutlich schon wieder aus dem Blute in die Gewebe verschwunden. Gerade hier war die Kalkwirkung beträchtlich. Obwohl der im Blute zu findende Anteil stets nur einen kleinen Bruchteil des gesamten aufgenommenen Kalkes ausmacht und daher die Differenzen im Blutkalk kaum ausschlaggebend sein können für die in den Geweben erreichte Kalkkonzentration, so ist doch auch hier wieder höchst bemerkenswert, daß für die zentralnervösen Kalkwirkungen der Kalkgehalt des Blutes oder Plasmas in keiner Weise maßgebend ist.

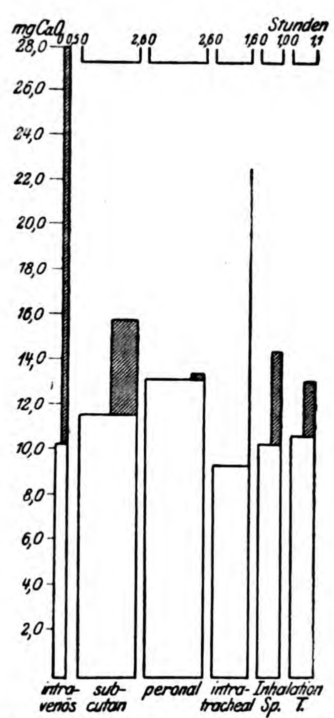


Fig. 2. Höhe der weißen Felder: Kalkspiegel im Blute vor Kalkzufuhr. Höhe der schraffierten Felder: Kalkspiegel im Blute nach Kalkzufuhr. Breite der Felder: Zeit der Untersuchung.

Tabelle X gibt nochmals eine zusammengefaßte Übersicht unserer wichtigsten Resultate; ihre graphische Darstellung liefert das Diagramm der Fig. 2.

Blutkalk und Kalkwirkungen.

Sucht man sich darüber klar zu werden, welche Bedeutung die ermittelten Zahlen über das Verhalten des Blutkalks für

Tabelle X.

Zusammenstellung von Mittelwerten.

Nr.	Chlorcalcium		Zeit der Analysen nach Calciumzufuhr	mg CaO in 100 ccm			
				Blut		Serum	
	Zufuhrweg	Dosis im Mittel g pro kg ($CaCl_2 + 6 H_2O$)	Std.	vor	nach	vor	nach
				Calciumzufuhr			
8, 9	intravenös	0,23	0,2–0,5	10,4	27,9	17,9	39,9
12–15	subcutan	0,23	1,5–2,6	11,7	15,9	17,1	25,5
16, 17	peranal	< 0,24	2,0–2,6	13,2	13,5	15,6	15,8
18, 19	intratracheal	0,27	1,2–1,6	9,5	22,7	14,6	24,7
20–22	Inhalation Spieß-Dräger	(0,27)	0,6–1,0	10,4	14,7	17,7	21,7
23–26	Inhalation Tancré	(0,17)	0,6–1,1	10,8	13,1	16,0	17,6

die Beurteilung der Kalkwirkungen besitzen, so ist es zunächst erforderlich, unter den zahlreichen bekannten Wirkungen eine gewisse Ordnung zu schaffen.

Von vornherein könnte man denken, daß eine prinzipielle Scheidung solcher Beobachtungen notwendig sei, wo zunächst das Fehlen des Calciums abnorme Verhältnisse geschaffen hatte, die durch Zufuhr von Kalksalz aufgehoben wurden, und solcher, bei denen zu der normalen Kalkmenge ein abnormer Überschuß zugefügt wurde; denn es gibt sehr wohl Fälle, wo Ausfallserscheinungen durch Substanzen aufgehoben werden, deren Überschuß keine erkennbare Giftwirkung auslöst (z. B. Vitamine), und andererseits Wirkungen durch einen Überschuß normal vorkommender Substanzen, die nicht mehr als bloße quantitative Steigerung einer normalen Dauerwirkung angesehen werden können (z. B. Arteriosklerose durch Milchsäure). Beim Calcium aber haben wir Grund, die Aufhebung von Ausfallserscheinungen und die Erzeugung abnormer Kalkwirkungen als gleichsinnige Einflüsse zu betrachten: Kalkmangel hindert die Blutgerinnung, Überschuß beschleunigt sie[1]); am Froschherzen wirkt Kalkmangel — wenigstens bei Kaliumgegenwart — tonusvermindernd, Kalküberschuß tonussteigernd; am Froschsartorius beobachteten Keith Lucas[2]), G. K. Mines[3]) und E. Kahn [bei Gildemeister][4]) entgegengesetzte Veränderungen der Anspruchsfähigkeit gegenüber elektrischen Reizen, je nachdem die Lösung keinen oder überschüssigen Kalk enthielt: Überschuß steigerte die Reizschwelle, verminderte die Erregbarkeit durch weniger steil verlaufende Ströme und kürzte die „Nutzzeit", d. h. die zur Erregung notwendige Mindestdauer des

---

[1]) Literatur siehe bei Morawitz, Erg. d. Physiol. **4**, 346, 1905.
[2]) Journ. of Physiol. **37**, 472ff., 1908.
[3]) Journ. of Physiol. **37**, 437ff., 1908.
[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. **143**, 428, 1912; sowie Diss. Straßburg 1911.

Schwellenstroms ab; Kalkmangel wirkte umgekehrt, auf die Reizschwelle allerdings nur anfangs und vorübergehend. Die Funktionsänderungen an den genannten kleinen Organen des Frosches treten rasch, im Laufe von 1 bis 2 Minuten, ein, ja an den vom Calciumion wirklich berührten Elementen wohl augenblicklich[1]).

Veränderungen der Erregbarkeit sind auch sonst unter Calciumwirkung festgestellt worden. Herbst sah das Aufhören von Muskelbewegungen bei Medusen, Amphioxus usf. in kalkfreien Lösungen und deren Wiederkehr in kalkhaltigen[2]). Sabbatani fand die Hirnrinde nach lokaler Einwirkung von Calciumchlorid „weniger erregbar" durch elektrische und mechanische Reize — auch hier wieder das Umgekehrte nach Einwirkung kalkentziehender Mittel, wie Oxalat[3]); Rancoroni stellte die verminderte Erregbarkeit der Hirnrinde auch nach intravenöser Chlorcalciuminjektion fest[4]). Bei künstlich — sei es durch Gifte[5]), sei es durch Exstirpation der Nebenschilddrüsen[6]) — gesteigerter Erregbarkeit des Zentralnervensystems oder peripherer Nervenendigungen ließ sich diese durch Calciumzufuhr unterdrücken oder dämpfen. Hierher gehört auch die Tetanie der Säuglinge oder Erwachsener, die in so frappanter Weise auf Kalktherapie reagiert[7]). Wichtig ist die Feststellung, daß die Wirkung auf die Tetanie prompt durch innerliche Calciumgaben herbeigeführt wird und die Zufuhr des Mittels etwa einen Tag überdauert.

Noch wenig durchsichtig sind die Wirkungen, die an den Funktionen der Atmung und des Kreislaufs nach Kalkzufuhr beobachtet werden. Wie es scheint, kommen dabei als Angriffspunkte die Zentren wie die peripheren Endigungen von Vagus und Accelerans, ferner auch der selbständige neuromuskuläre Apparat des Herzens selbst in Frage[8]); die dort im einzelnen durch Calcium gesetzten Änderungen können sich in verschiedener Weise kombinieren, und überdecken, und die dadurch

---

[1]) Vgl. W. Straub, a. a. O.

[2]) Arch. f. Entwicklungsmechanik **17**, 484ff., 1904. — Vgl. ferner Höber, Physikal. Chemie der Zelle und der Gewebe. 4. Aufl., Wilhelm Engelmann 1914, S. 542.

[3]) Rivista sperimentale di Freniatria 27, 946, 1901; zit. nach Mac Callum und Voegtlin, Journ. of exper. Medicine **11**, 118, 1908.

[4]) Zitiert nach Mac Callum und Voegtlin a. a. O.

[5]) Vgl. Loewi nach Hans Meyer und Gottlieb, Exper. Pharmakol., 3. Aufl., Berlin-Wien, 1914. S. 147. — Dazu auch Chiari und Fröhlich, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **64**, 214, 1911.

[6]) Mac Callum und Voegtlin a. a. O.

[7]) Netter, Compt. rend. Soc. Biol. **1906**, 279. — Erich Meyer, Hans Curschmann u. a., Literatur s. Blühdorn a. a. O.

[8]) Vgl. dazu: Busquet und Pachon, Journ. de Physiol. et de path. gén. **11**, 807, 851, 1025, 1909. — J. Cazzola, Arch. di Fisiol. **11**, 89, 1913; zit. nach Malys Jahresber. d. Tierchem. **43**, 1524, 1913. — D. R. Hooker, Amer. Journ. of Physiol. **38**, 200, 1915. — Langendorff und Hueck a. a. O. S. 473, 481.

am Kreislauf eintretenden Störungen ihrerseits auf die Atmung zurückwirken, wie es z. B. Haffner[1]) dargelegt hat. Dazu kommt noch, daß ja die Kalkwirkung auf nervöse Gebilde mit dem Begriff „Herabsetzung der Erregbarkeit“ wohl keineswegs hinreichend definiert ist; denn die am Muskel bei qualitativ verschiedenen Reizen aufgefundenen Abweichungen der Reaktionsfähigkeit, die nicht schlechthin als gleichsinnige aufgefaßt werden können[2]), darf man bis auf weiteres auch für den Nerven erwarten. Aus allen diesen Gründen läßt sich auch schlecht beurteilen, inwiefern Funktionsänderungen, die bald als Erregung, bald als Lähmung in Erscheinung treten, in ihrer Qualität von der angewandten Dosis abhängig sind[3]).

Von prinzipieller Bedeutung aus diesem Tatsachenbereich ist nur die Feststellung, daß viele dieser Wirkungen vorübergehender Natur sind, z. B. nach intravenöser Injektion nur einige Minuten andauern, und daß sie dann quantitativ aufs deutlichste nicht von der einverleibten Gesamtmenge, sondern von der im Augenblick im Blute herrschenden Konzentration abhängig sind.

Das gilt insonderheit von der lebensgefährlichen Herzwirkung, die in ihren verschiedenen Graden als Pulsirregularität, Kammerflimmern oder Herzstillstand zum Ausdruck kommt; je nach der Injektionsgeschwindigkeit kann man bei intravenöser Zufuhr diese Erscheinungen durch kleine Dosen herbeiführen oder bei großen Dosen vermeiden[4]). In diesem Punkte besteht also strenge Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen am intakten Säugetier und am isolierten Froschherzen[5]). Aber auch am Zentralnervensystem wurden augenblickliche Funktionsänderungen bei Erhöhung des Kalkgehaltes im Blute beobachtet, z. B. durch Hooker[6]) in Durchströmungsversuchen.

Gegenüber diesen Feststellungen verdient die von uns wie von früheren Forschern[7]) beobachtete Tatsache Betonung, daß neben solchen Augenblickswirkungen des Kalkes auch starke, zum Tode führende Lähmungen des Zentralnervensystems vorkommen, die sich erst allmählich entwickeln. Dies kann auch bei intravenöser Injektion der Fall sein (vgl. Versuch 9). Bei subcutaner Injektion konnten wir in einem Versuch (14) das

---

[1]) A. a. O.

[2]) Vgl. oben, sowie Lucas, Mines, Kahn a. a. O.

[3]) Cazzola, Haffner a. a. O.

[4]) Cazzola a. a. O. — Haffner a. a. O. S. 14. — O. Gros, persönliche Mitteilung nach unveröffentlichten Versuchen.

[5]) W. Straub, Kionka a. a. O.; ferner O. Gros.

[6]) A. a. O.

[7]) Vgl. Hans Meyer und Gottlieb a. a. O. S. 482.

Auftreten schwerer zentraler Symptome, wie Bewußtlosigkeit, 2 Stunden nach der Vergiftung bemerken, die einige Stunden später verschwunden waren, um noch später erneuten stärkeren Lähmungserscheinungen Platz zu machen.

Eine weitere wichtige Wirkung des Kalkes ist die „Gefäßdichtung", oder allgemeiner Sekretionsbeschränkung. Daß Kalk bei vielen exsudativen Prozessen klinisch-therapeutisch Nutzen stiftet, ist ja bekannt genug[1]). J. B. Mac Callum[2]) beschrieb, daß die Flüssigkeitsausscheidung in den Darm durch Behandeln seiner Peritonealfläche mit einer etwa isotonischen Lösung von 2,8% $CaCl_2 + 6\,H_2O$ deutlich vermindert wurde. Mit einer anderen, vielleicht anfechtbaren Methode ist dies Resultat im Prinzip durch Fleisher, Hoyt und Loeb[3]) bestätigt worden. Leo[4]) erzeugte durch Senföl, Aloin und Crotonöl Darmentzündungen bei Kaninchen und konnte Rötung und Schwellung durch intravenöse, sowie durch hohe und häufige innerliche Calciumgaben vermindern. Chiari und Januschke[5]) fanden in ihrer vielgenannten Arbeit, daß subcutane Chlorcalciumgaben die Entstehung der Conjunctivitis und Chemosis, wie sie am Kaninchenauge normalerweise nach Senföleinträufelung zur Entwicklung kommt, abschwächen oder ganz verhindern. C. Finsterwalder[6]) bestimmte an Kaninchen und Meerschweinchen die Dosis, die bei intravenöser Injektion ½ Stunde vor der Senföleinträufelung eben zur Verhinderung der Chemosis ausreichte, zu etwa 0,2 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$ pro Kilogramm; die Hälfte war noch partiell, das Viertel gar nicht mehr wirksam. Leo[7]) sah bei subcutaner Zufuhr bessere Erfolge als bei intravenöser; wirkungslos war Zufuhr per anum, gut wirksam lokale Instillation ins Auge (2,5% $CaCl_2$[8]). Nach einer persönlichen Mitteilung von R. Magnus kann die entzündungshemmende Wirkung gegenüber der Senföleinträufelung (am Kaninchen?) noch 24 Stunden nach einer subcutanen Calciumdosis fortwirken. In einigen eigenen Versuchen an Katzen schien uns diese Kalkwirkung eher auf die ersten Stunden nach der Injektion beschränkt, übrigens auch nicht völlig zuverlässig zu sein [0,2 bis 0,3 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$ subcutan 4 Stunden vor der Senföleinträufelung][9]).

---

[1]) Vgl. z. B. Von den Velden, Therapeut. Monatsh. 27, 685, 1913.
[2]) Amer. Journ. of Physiol. **10**, 266, 1904.
[3]) Journ. of experim. Medicine **11**, 291, 1909. — Centralbl. f. Physiol. **22**, 496, 1908.
[4]) Berl. klin. Wochenschr. **53**, 613, 1916.
[5]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 120, 1911.
[6]) Arch. f. d. ges. Physiol. **153**, 546, 1913. Diss. Bonn 1913.
[7]) Deutsche med. Wochenschr. 37, 6, 1911.
[8]) Richard Levy, Deutsche med. Wochenschr. **1914**, 949, konnte die lokale Wirksamkeit nicht bestätigen (1 Versuch); derselbe übt mit Recht Kritik an Leos angeblichen Erfolgen bei innerlicher Kalkzufuhr.
[9]) Die Versuche wurden zusammen mit Prof. M. Gildemeister ausgeführt.

Chiari und Januschke führen mit Hans Meyer[1]) die Wirkung des Calciums bei der Senfölchemosis auf eine Verdichtung der Intercellularsubstanz zwischen den Endothelzellen der Blutcapillaren zurück. Die Richtigkeit dieser Auffassung wurde von G. Rosenow[2]) geprüft: er injizierte einem Kaninchen 2 ccm 20%iger Lösung von Fluoresceinnatrium intravenös und sah nach 15 Sekunden eine grüne Linie in der vorderen Augenkammer auftreten; darauf erhielt das Tier im Laufe von 5 Stunden 3 g $CaCl_2 + 6 H_2O$ pro Kilogramm subcutan, also eine enorme Dosis. $1^1/_4$ Stunden nach der letzten Dosis ergab die wiederholte Prüfung mit Fluorescein erst nach 125 Sekunden die grüne Linie. 6 weitere Versuche von Rosenow, in denen die Calciumdosen zwischen 1 und 1,5 g pro Kilogramm schwankten, die Fluoresceinmenge kleiner war, und daher schon an sich eine längere Zeit bis zur deutlichen Grünfärbung der Vorderkammer brauchte, der Abstand endlich zwischen letzter Calciuminjektion und Fluoresceinprobe 3 bis $4^1/_2$ Stunden betrug, waren die Ergebnisse keineswegs so schlagend: 3 mal war keinerlei Verzögerung der Fluoresceinausscheidung festzustellen, 3 mal betrug sie $^3/_4$ bis 1 Minute bei einer Normalzeit von etwa 2 Minuten. Es könnte scheinen, als ob trotzdem durch diese Versuche ein Beweis zugunsten der Annahme von Chiari und Januschke geliefert sei; doch ist zu bedenken, daß Calcium auch den Blutdruck erniedrigt und dies bei den gewaltigen von Rosenow verwendeten Dosen nach den genannten Zeiten wahrscheinlich eingetreten war. Wenn, wie wir es erlebt haben (Versuche 19, 22, 23, 26), aus der Carotis oder der angeschnittenen Zunge nur ganz spärliche Blutstropfen quellen, so würde es nicht verwunderlich erscheinen, wenn auch die Irisgefäße injiziertes Fluorescein langsamer zugeführt erhielten. Daher sind auch die Versuche Rosenows, in denen er Chlorcalcium subcutan anwandte und die Differenz zwischen dem ersten Auftreten der gelben Hautfärbung und der grünen Linie in der Vorderkammer bestimmte, zu Schlußfolgerungen über die Durchlässigkeit der Irisgefäße nur teilweise verwertbar; überzeugend sind von 12 Versuchen mit Dosen von 0,5 bis 2,0 g $CaCl_2 + 6 H_2O$ pro Kilogramm eigentlich nur 2 mit den hohen Dosen von 2,0 g, nach denen die Fluoresceinausscheidung sich gegenüber dem Auftreten der Hautfärbung einmal um 65 Minuten verzögerte, das andere Mal überhaupt nicht einstellte. Von den übrigen Versuchen weisen die Hälfte Verzögerungen zwischen 3 und 11, die Hälfte sogar nur 2 bis 0 Minuten auf. Ebenso ist die Angabe von Tristaino[3]), daß 0,2 g Chlorcalcium bei Kaninchen eine Erniedrigung des intraokularen Druckes herbeiführe, verschiedenen Deutungen zugänglich[4]).

Chiari und Januschke stützen ihre Ansicht auch noch auf Befunde, die sie an Tieren erhoben, denen Pleuraexsudate durch Ver-

---

[1]) Münch. med. Wochenschr. **1910**, 2277.

[2]) Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. **4**, 427, 437 ff., 1916.

[3]) Archivio di Ottamologia **20**; Archives Ital. de Biol. **60**, 61, 1913, zitiert nach Malys Jahresber. **1913**, 483.

[4]) Vgl. dazu K. Wessely, Arch. f. Augenheilk. **83**, 99, 1918.

giftung mit Jodid oder Diphtherietoxin künstlich gesetzt werden sollten. Dieser Teil ihrer Arbeit ist von Richard Levy[1]) nachgeprüft worden und konnte nicht bestätigt werden. Wir können hinzufügen, daß auch Versuche von Oswald Loeb und Strangmeyer[2]) Zweifel an der Richtigkeit jener Angaben erweckt hatten, insofern die von Chiari und Januschke als Testprobe benutzte Pleuritis nach Jodidvergiftung keineswegs als regelmäßiger Befund erhoben wurde. Levy konnte immerhin bei Erzeugung eines entzündlichen Exsudats durch intrapleurale Terpentininjektion eine gewisse Hemmungswirkung des Kalks in den ersten Stunden des Entzündungsprozesses beobachten. Ebenso konnte er sich wie Leo und viele andere von der Kalkwirkung auf die Senfölchemosis leicht vergewissern.

Erwähnenswert sind in diesem Zusammenhange auch die Untersuchungen von Fleisher, Hoyt und Loeb[3]). Zwar benutzten sie eine allzu eingreifende Methode, insofern sie Kaninchen im Laufe von $2^1/_2$ bis $3^1/_2$ Stunden soviel Salzlösung ins Blut infundierten, als einem Drittel oder sogar der Hälfte ihres gesamten Körpergewichts entsprach. Ihre Versuche sind nur statistisch zu verwerten, indem man die einzelnen Reihen mit und ohne Kalk in der Infusionsflüssigkeit vergleicht; sie liefern immerhin das bemerkenswerte Ergebnis, daß unter Infusion kalkhaltiger Lösung sich die im Darm (ebenso wie die in den Nieren) abgeschiedene Flüssigkeit vermindert, dagegen das in der Bauchhöhle und in den Lungen sich ansammelnde Transsudat vermehrt. Diese Äußerung einer quantitativ verschiedenen Beeinflussung verschiedener Gefäßprovinzen mahnt mindestens zur Vorsicht gegenüber der Verallgemeinerung von Befunden, die an einer Stelle des Körpers erhoben wurden.

Chiari und Januschke berufen sich endlich auf die wichtigen Beobachtungen von Herbst[4]) an Seeigeleiern, der nach der Befruchtung deren Entwicklung im kalkfreien Seewasser vor sich gehen sah, doch unter Verlust des Zusammenhalts der aus den Teilungen hervorgegangenen Einzelzellen, und der die Anfangsstadien dieser Auflockerung durch Kalkzufuhr wieder festigen konnte. Zweifellos ist durch diese Feststellungen ein sehr eindringliches Argument dafür gegeben, daß Kalk auf die Zwischensubstanz von Zellen in weit stärkerem Maße einwirkt, wie auf den Zellinhalt selbst. Eine Übertragung dieser Befunde auf das Geschehen in einem Warmblüterorganismus dürfte wohl die Annahme voraussetzen, daß der Kalk wie in den Versuchen von Herbst in der die Zellen umspülenden Flüssigkeit vermindert oder vermehrt ist; denkt man an eine „Dichtung" der Kittsubstanz zwischen den Endothelien der

---

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 48, 1322, 1911; Deutsche med. Wochenschr. 1914, 949.

[2]) Verhandl. d. Ges. deutscher Naturf. u. Ärzte 1911, II, 2, S. 483. — A. Strangmeyer, Beiträge zur Pharmakologie des Jods. Inaug.-Diss. Göttingen 1913, S. 12 bis 17.

[3]) A. a. O.

[4]) Arch. f. Entwicklungsmechanik 9, 424, 1900; 17, 480, 1904.

Blutcapillaren, so müßte also der Kalkgehalt des Blutplasmas, speziell dessen ionisierter Anteil, vermehrt sein. Daß eine spezifische Anreicherung, etwa durch Adsorption, ausschließlich oder vornehmlich an dieser Kittsubstanz erfolge und auch bei normalem Kalkgehalt des Plasmas bestehen bleibe, ist wohl vorstellbar, aber doch nur schwer unseren sonstigen Begriffen von Natur und Aufgaben dieser Kittsubstanz einzuordnen. Übrigens spricht die Raschheit der Veränderungen, wie sie Herbst bei Wechsel seiner Lösungen an den Furchungszellen eintreten sah, auch an diesen Objekten gegen eine vom Gehalt der umspülenden Lösung relativ unabhängige „Speicherung" des Kalks in der Zwischenzellsubstanz.

Faßt man alles dies zusammen, so muß man zugeben, daß die von Hans Meyer und seinen Schülern vermutete Dichtung der Blutcapillaren möglich ist, solange der Kalkgehalt des Blutplasmas die Norm merklich übertrifft, daß auch manche Beobachtungen sehr dafür sprechen, daß eine solche Wirkung vorkommt, daß aber andererseits ein wirklich zwingender, einwandfreier Beweis für ihre Existenz bei den bisher damit gedeuteten Erscheinungen noch nicht vorliegt. Wie sehr für solche auffälligen und sicheren Wirkungen, wie es die Unterdrückung gerade der Senfölchemosis am Kaninchen ist, auch noch andere Erklärungen in Betracht kommen, lehren Angaben von Wiechowski und Starkenstein[1]), nach denen Atophan im gleichen Sinne wie Calcium wirksam ist, ein Mittel also, dessen Angriffspunkt wir im Nervensystem zu suchen pflegen. Erinnert man sich der mancherlei sonstigen Wirkungen, die Calcium an nervösen Elementen, auch der Peripherie, ausübt, und der Bedeutung der nervösen Reaktion für die Entwicklung jeder Entzündung, so gewinnt die Hypothese einer depressiven Nervenwirkung durch Kalk ihre Berechtigung neben der Hypothese einer Gefäßdichtung. J. B. Mac Callum hatte ohne weiteres die von ihm beobachtete beruhigende Kalkwirkung auf die Darmperistaltik in Parallele gesetzt zu der sekretionsvermindernden Wirkung an der Darmschleimhaut, für beide also den Angriffspunkt in erregbaren Gebilden gesucht[2]).

Nach dieser Übersicht vermögen wir unseren Beobach-

[1]) Prager med. Wochenschr. **1913**. — Wiener klin. Wochenschr. **1913**, 87.

[2]) A. a. O. S. 266.

tungen das Folgende zur Frage des Zusammenhangs zwischen Kalkkonzentration im Blute und Kalkwirkung zu entnehmen:

1. Die Blutgerinnung zeigte sich nur einmal in auffälliger (d. h. ohne messende Methoden erkennbarer) Weise beschleunigt (Versuch 9), und zwar bei der Entnahme derjenigen Blutprobe, die den höchsten von uns analysierten Wert lieferte: 41,1 mg CaO in 100 ccm Serum, gleich einer Vermehrung auf das $2^1/_2$ fache der Norm. Wir registrieren diesen Befund als bemerkenswert, ohne jedoch weitere Folgerungen daran zu knüpfen, da von den Velden darauf hingewiesen hat[1]), daß beliebige intravenöse Injektionen die Gerinnungsgeschwindigkeit des Blutes steigern und daher die Frage offen bleibt, inwieweit eine spezifische Kalkwirkung vorliegt.

2. Eine akute Herzwirkung, nämlich unregelmäßigen Puls, sahen wir nur in den ersten Augenblicken nach Injektion $5^0/_0$iger Chlorcalciumlösung (mit $1{,}28^0/_0$ CaO) in die Jugularvene, wobei die Kalkkonzentration des Blutplasmas die Norm wahrscheinlich um das Mehrfache übersteigt.

3. Am Zentralnervensystem konnten wir Wirkungen unterscheiden, die auf dem Höhepunkt der Kalkkonzentration im Blute am deutlichsten ausgeprägt waren, und solche, bei denen sie völlig normal war. Nach unseren Ermittlungen darf auch für verschiedene der oben angeführten, von anderen Autoren als vorübergehend geschilderten Funktionsänderungen eine Abhängigkeit von der Ionenkonzentration des Blutes angenommen werden, besonders überall da, wo intravenöse Injektion angewandt wurde; denn dabei sinkt ja die Kalkkonzentration steil ab. Andererseits können Lähmungserscheinungen, die viele Stunden nach einer einmaligen intravenösen oder subcutanen Kalkdosis noch vorhanden oder gar erst in stärkerem Grade aufgetreten sind, unmöglich durch eine Steigerung des Blutkalkes erklärt werden, denn diese besteht dann nicht.

Ungeklärt ist bisher noch die Frage, wie das Blut sich bei einer Anreicherung des Körpers durch mehrfach wiederholte Dosen, z. B. auch durch konsequente Eingabe per os verhält, die ja in der Regel bei der therapeutischen Anwendung des Kalkes geübt wird; es ist gewiß von vornherein nicht auszuschließen, daß dabei eine länger dauernde Erhöhung des Kalkspiegels im Blute erzeugt werden kann, wenn sie auch

---

[1]) Therapeut. Monatsh. 27, 696, 1913.

nach unseren Erfahrungen bei subcutaner und inhalatorischer Zufuhr kaum beträchtlich sein dürfte. Ob man aber bei normal vorkommenden Schwankungen des Serumkalkes zwischen 14 und 20 mg einer durch Kalkzufuhr gesetzten künstlichen Vermehrung auf das $1^1/_2$fache des vorherigen Betrags — und das ist schon viel! — eine große Bedeutung für die Wirkungen des Kalkes beimessen darf, wäre mindestens noch durch genauere Erforschung zu ermitteln. Vergegenwärtigt man sich überdies, ein wie kleiner Betrag der gesamten eingeführten Kalkmenge in einer solchen Steigerung der Blutkonzentration zum Ausdruck kommt, so erscheint es fast gezwungen, dem Blutkalk eine entscheidende Rolle für die heilsamen Kalkwirkungen, z. B. bei Tetanie, zuzuschreiben; man wird vielmehr zu der Annahme gedrängt, daß im Nervengewebe selbst aufgenommenes Calcium deren Ursache bilde. Es muß Aufgabe weiterer Untersuchungen sein, diese Annahme zu prüfen.

Einer experimentellen Stütze bedarf übrigens auch noch die hier stillschweigend gemachte Voraussetzung, daß das Verhalten des Blutkalkes nach Kalkzufuhr bei verschiedenen Tierarten auch wirklich gleich ist; als gewiß kann dies nicht ohne weiteres betrachtet werden. Auch das Verhältnis zwischen ionisiertem und nichtionisiertem Anteil des Plasmakalkes verdient genaue Berücksichtigung[1]).

4. Für die Auffassung der sekretions- und entzündungsbeschränkenden Calciumwirkung liefern unsere Analysen nichts Entscheidendes, weil die vorliegenden Angaben sich nicht in einmütiger Richtung bewegen: die Mitteilung von Leo über die bessere Wirkung subcutaner gegenüber intravenöser Zufuhr, sowie die Zeit- und Dosenangaben Rosenows im Vergleich zu den Wirkungserfolgen stimmen zu der Annahme einer direkten Abhängigkeit der Wirkung von der Kalkionenkonzentration im Blute, könnten also die Vermutung einer Gefäßdichtung stützen; auf der anderen Seite ist die Behauptung von Magnus über die lange, 24stündige, Nachwirkung kaum damit in Einklang zu bringen; sie deutet auch für diese Wirkung auf eine Speicherung in nervösen Elementen. Vielleicht gehen auch Einflüsse, die in der Zwischenzellsubstanz der Capillarendothelien und im Nervengewebe lokalisiert sind, gleichzeitig nebeneinander her.

Therapeutisches.

Für die menschliche Therapie ergibt sich aus unseren Versuchen die sichere Erkenntnis, daß es mit Hilfe der Inhalation in praktisch brauchbaren Zeiten gelingt,

[1]) Vgl. Rona und Takahashi, a. a. O.

Calcium in wirksamen Dosen ohne bemerkbare lokale Schädigung einzuverleiben und daß dabei auch der Blutkalk übernormale Werte erreichen kann. Die Steigerung des Blutkalkes scheint jedoch nicht ganz auf die Höhe zu kommen, wie nach subcutaner Anwendung gleicher Dosen. Erst recht bleibt sie gegenüber der Injektion in die Luftröhre zurück. Ob diese Differenz damit zusammenhängt, daß bei Inhalation kein größeres Kalkdepot an einem Orte gesetzt wird, sondern die Aufnahme in den Körper sich über längere Zeit gleichmäßig verteilt, ist noch nicht hinreichend aufgeklärt; ebenso geben unsere Versuche noch keine Auskunft darüber, wie rasch nach Beginn der Inhalation eine nachweisbare Erhöhung des Blutkalkes einsetzt und wie lange nach Ende der Inhalation sie sich noch hält.

Weiterhin ist es von praktischem Interesse, daß der Zerstäubungsapparat nach Spieß-Dräger sich dem von Tancré als deutlich überlegen gezeigt hat. Sowohl die aus den physikalischen Größen berechneten Zahlen für die Inhalationsdosen wie die gefundenen Analysenwerte im Blute stimmen darin überein, daß unter sonst gleichen Bedingungen das erstgenannte Gerät ein größeres Quantum Inhalationsnebel in die Atemwege liefert.

Für die Dosierung beim Menschen bietet sich gegenüber dem Tierversuch der Vorteil der willkürlichen Beherrschung der Atemgröße; dadurch wird es bei genauer Kenntnis der Eigenschaften des benutzten Apparates und einmaliger Messung oder auch nur annähernd richtiger Schätzung der (konstant gehaltenen) Atemgröße möglich sein, die wirklich eingeatmete Menge nahezu gleich einer vorher gewählten Größe zu machen. Voraussetzung wäre freilich nur, daß mit jedem Atemzug eine Luft eingeatmet wird, die gleichmäßig und vollständig mit Inhalationsnebel erfüllt ist.

Selbstverständlich muß die Dosierung des Calciums beim Menschen erheblich unter der Größe bleiben, wie wir sie in Tierversuchen anwenden konnten. Zur Erzielung greifbarer Ergebnisse bewegten wir uns ja absichtlich nicht weit unter der tödlichen Grenzdosis. Man darf die Frage aufwerfen, ob bei den in der menschlichen Therapie in Betracht kommenden Dosen eine Erhöhung des Blutkalkes nachweisbar sein wird

— ausgenommen bei unmittelbarer Einspritzung ins Blut. Soviel wir aus unseren in dieser Hinsicht sehr spärlichen Befunden schließen dürfen, scheint mit sinkender Dosis die Steigerung des Blutkalkes ziemlich rasch abzunehmen. Trifft dies zu, so wird man bezüglich der Möglichkeit, den Blutkalk therapeutisch zu beeinflussen, keine großen Erwartungen hegen dürfen.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Der Blutkalk gesunder Katzen beträgt im Mittel 11 mg und schwankt von 9,5 bis 12,5 mg CaO pro 100 ccm.

2. Das Serum enthält im Mittel 16 mg CaO pro 100 ccm.

3. In den Blutkörperchen wechselt der Kalk von Null bis mindestens 6 mg CaO pro 100 ccm.

4. Nach intravenöser Zufuhr hoher Kalkdosen bleibt der Blutkalk geraume Zeit auf das 2- bis 3 fache der Norm erhöht; nach etwa 2 Stunden ist der Ursprungswert wieder erreicht.

5. Nach subcutaner Zufuhr steigt der Blutkalk im Lauf der ersten Stunde auf etwa das $1^1/_2$ fache der Norm und hält diese Höhe stundenlang fest.

6. Vom Rektum wird Calcium sehr schlecht, von der Trachea sehr gut resorbiert.

7. Durch Inhalation von Chlorcalciumlösungen lassen sich Kalkwirkungen und Steigerungen des Blutkalkes um $^1/_3$ über die Norm erzielen.

8. Die Kalkwirkungen zerfallen in zwei Gruppen: solche, die von der Ionenkonzentration des Calciums im Blutplasma abhängen, und solche, die unabhängig davon sind.

9. Die Annahme einer „gefäßdichtenden" Wirkung des Calciums ist noch nicht hinreichend gestützt.

10. Der Zerstäubungsapparat nach Spieß-Dräger liefert einen dichteren Inhalationsnebel als der nach Tancré.

Herrn Professor Cremer, der uns Räume und Hilfsmittel seines Instituts mit freundlichstem Entgegenkommen zur Verfügung stellte, statten wir auch an dieser Stelle unseren herzlichen Dank ab.

Eine Methode zur makrochemischen Untersuchung von Zellinhaltskörpern.

Vorläufige Mitteilung.

Von

Fritz Netolitzky (Czernowitz).

(Eingegangen am 13. November 1918.)

Noch vor dem Kriege hatte ich eine Arbeitsweise gefunden, um Krystalle von oxalsaurem Kalke aus Pflanzenpulvern in größerer Menge zu gewinnen. Leider gingen die analysenfertigen Körper samt den Aufzeichnungen durch die Plünderung des Institutes in Czernowitz verloren. Erst jetzt fand ich in der Landwirtschaftlich-chemischen Versuchsstation in Wien Gelegenheit, einen Teil neuerlich zu gewinnen, worüber ich in Kürze berichten will.

Die bekannte Schnellprüfung der Mehle auf Zusatz von Mineralien besteht darin, daß Mehl mit Chloroform (spez. Gewicht 1,498) geschüttelt wird; es setzt sich dann das Gesteinspulver (Gips, Sand usw.) zu Boden, während der Mehlanteil aufwärts steigt[1]).

Behandelt man das an großen Einzelkrystallen ungemein reiche Pulver der Seifenrinde (Cortex Quillajae) in derselben Weise, so setzt sich fast die Hälfte der in Arbeit genommenen Pulvermenge zu Boden. Die mikroskopische Untersuchung des Bodensatzes ergibt fast ausschließlich Krystalle als Bestandteil, denen fremde Körper nahezu fehlen. Letztere sind

[1]) In ähnlicher Weise trennen die Mineralogen feinstes Gesteinspulver nach dem verschiedenen spezifischen Gewichte der einzelnen Gemengteile, um dann deren makrochemische Untersuchung durchführen zu können. — Spelzenreiche Futtermittel würden bei Veraschungen zu hohe „Sand"werte aufzeigen, so daß hier die Chloroformtrennung zur Kontrolle benutzt wird.

kleine Gesteinssplitter als Zeichen der Verschmutzung der technischen Rinde und mitgerissene Zellstückchen.

Dieses Verhalten benützte ich, um die Krystalle in möglichster Reinheit zu erhalten und um dadurch die Frage nach ihrer chemischen Zusammensetzung ohne Zuhilfenahme der Mikrochemie zu lösen; denn bis heute kennen wir die Menge des Krystallwassers nicht mit Sicherheit[1]), obwohl es für den Aufbau und die Form der Krystalle von Bedeutung ist.

Den ersten Chloroformabsatz der feinst gepulverten Quillajarinde reinigte ich mehrmals durch Aufschütteln und Absetzenlassen, wobei es wichtig ist, daß die am schnellsten zu Boden fallenden Anteile, die aus „Sandkörnern" bestehen, entfernt werden, was am besten im Schütteltrichter oder im Spitzglase (mit weiter Hahnbohrung) geschieht. Auch der zuletzt sinkende Anteil ist unrein, doch besteht hier das Ungewünschte hauptsächlich aus Zellresten. Es macht sich überhaupt eine gewisse Schichtung des Bodensatzes bemerkbar, der bisweilen geradezu gebändert ist.

Aus diesem Grunde verwendete ich zur endgültigen Reinigung neben Chloroform noch verschiedene andere Flüssigkeiten von hohem spezifischen Gewichte, z. B. Tetrachlorkohlenstoff (spez. Gewicht 1,63), während mir Bromoform (spez. Gewicht 2,90) nicht, wie früher im Frieden, zur Verfügung stand; mit letzterem arbeitet es sich darum besonders bequem, weil man durch allmählichen Zusatz von Alkohol oder Äther das spezifische Gewicht herabsetzen kann und dadurch eine beliebige Reihe von Fraktionen erhält.

Durch dieses mechanische Absitzenlassen in verschiedenen indifferenten schweren Flüssigkeiten gelangte ich zu einem Krystallpulver aus Quillaja, das unter dem Mikroskope nur noch wenige fremde Körper aufwies und fast weiß war. Der leicht graugelbe Stich rührte von Gesteinssplittern her, die offenbar fast dasselbe spezifische Gewicht besitzen wie die Krystalle.

---

[1]) In den meisten Fällen fehlt auch der Beweis für die Natur der an den Kalk gebundenen Pflanzensäure, da für die Diagnose: „Calciumoxalatkrystalle" meist nur ihre Form und Löslichkeitsverhältnisse als ausreichend betrachtet werden (vgl. Czapek, Biochemie der Pflanzen **1905**, 420).

Jedenfalls hätte ich mir manche Arbeit[1]) bei den Versuchen, ein vollkommen reines Präparat zu erhalten, ersparen können, wenn die Rindenstücke vor dem Pulvern mit Wasser und Bürste gereinigt worden wären. Da aber ein solcher Ausgangsstoff nicht erhältlich war und die Gesteinssplitterchen mikrochemisch nicht aus Kalk, sondern aus Silikaten und Eisenspuren bestanden, verzichtete ich auf die restlose Entfernung und zog sie nur beim Endergebnis in Rechnung.

Ein möglichst gut gereinigtes Krystallpulver gab bei der Kalkbestimmung 103,7 % CaO der theoretisch verlangten Menge (bei Annahme der Formel $CaC_2O_4 + H_2O$), während bei der Titration der Oxalsäure mit Permanganat von der theoretischen Menge nur 94,8 % gefunden wurden. Das Mehr des gefundenen Kalkes ist eben auf Rechnung der hartnäckig anhaftenden „Sand"bestandteile zu setzen, ebenso das Weniger der organischen Substanz. Nimmt man aus beiden Bestimmungen das Mittel, so erreicht man 99,2 %.

Bei einer Probe, die weniger vom „Sande" gereinigt war, bestimmte ich letzteren mit 3,7 %, während die Ausbeute an reinem CaO = 98,3 % der theoretischen Menge betrug.

Die Quillajakrystalle haben daher die Formel $CaC_2O_4 + H_2O$, besitzen also nur 1 Mol Krystallwasser.

Die Quillajakrystalle wurden mit etwas weniger als der berechneten Menge Schwefelsäure zerlegt, die freigemachte Oxalsäure mehrfach umkrystallisiert und durch die bekannten chemischen Methoden sichergestellt. Die Titration mit Permanganat ergab 99,23 % der Theorie ($C_2O_4H_2 + 2\,H_2O$).

Infolge des Krieges fehlten die meisten Drogenpulver mit reichlichen Krystallen oder standen nur in sehr geringer Menge zur Verfügung, so daß der Plan, die verschiedenen Krystallformen auf ihre organische Basis und den Gehalt an Krystallwasser zu untersuchen, nicht durchgeführt werden konnte.

Nur die auffallenden Sphärokrystalle in den Epidermiszellen der Sesamsamen[2]) ließ ich mit Tetrachlorkohlenstoff absitzen. Sie enthalten aber stets so viel organische Stoffe angelagert oder eingeschlossen, daß eine Kalkbestimmung viel zu niedrige Werte gab. Die mit Schwefelsäure freigemachte organische Säure wurde mit Ätheralkohol ausgeschüttelt, mit Wasser einmal umkrystallisiert[3]), und erwies sich ebenfalls als Oxalsäure (93,2 % der berechneten Menge durch Titration mit Permanganat gefunden). Ganz dasselbe gilt von den Krystallen der Seifenwurzel (Saponaria officinalis), die ebenfalls so viel organische

---

[1]) Zur Sparung von Material sedimentierte ich zuerst mit Chloroform, das ich durch Filtration und Destillation zurückgewann. Den ersterzielten Bodensatz brachte ich in Bromoform, dem ich tropfenweise Äther zusetzte und dadurch die einzelnen Fraktionen trennte.

[2]) Vgl. Moeller, Mikroskop. d. Nahrungs- und Genußmittel, 2. Aufl., S. 324.

[3]) Für eine vollständige Reinigung war die Ausbeute zu gering.

Massen einschließen, daß die gefundene Kalkmenge auf 63,6 % des für die Formel mit einem Mol. Krystallwasser berechneten Wertes sank.

An dem niedrigen gefundenen Kalkwerte dürften aber weniger die anhaftenden organischen Bestandteile schuld sein, sondern vor allem ein höherer Krystallwassergehalt[1]) als bei den Quillajakrystallen, doch kann diese Frage erst bei geänderten Rohstoffverhältnissen beantwortet werden.

Die organische Basis ist aber auch hier die Oxalsäure[2]).

Besser als Saponaria eignet sich Rheum zur Reindarstellung der Krystalle, die in der Rhabarberwurzel so reichlich und so groß sind. Ich hatte schon auf der 85. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Wien (1913) diese Krystalle vorlegen können, doch gaben die ersten Analysen keine gut stimmenden Werte. Für die Untersuchung der Raphidenkrystalle ist Bulbus Scillae mein Ausgangsmaterial gewesen; doch ist es schwer, reine Präparate zu erhalten.

Aber nicht nur Krystalle lassen sich durch Chloroform usw abscheiden, sondern auch Cystolithen, verkieselte oder verkalkte Membranen, Haare usw. Man braucht bloß sehr feine Pflanzenpulver in Arbeit zu nehmen und die entsprechend schwere Flüssigkeit zu ermitteln. Sinken doch in Chloroform selbst die Aleuronzellen des Roggens zu Boden, so daß aus dem „Finklerschen Finalmehl" eine sie reichlich enthaltende Fraktion erzielt wurde. Auch die Pigmente z. B. von Linumsamen und das Phytomelan konnte ich auf diese Weise in bestimmten Fraktionen anreichern; sie in ausreichender Menge rein zu erhalten, ist nur von der Reichhaltigkeit des Ausgangsmaterials abhängig.

Ein sehr interessantes Objekt sind die Inklusen der Dattelfrucht und der Cratonia. Man erhält sie leicht durch Kochen der Früchte und Drücken des dünnen Breies durch ein feines Haarsieb. Durch Dekantieren der Aufschwemmung in Wasser oder Salzlösungen erhält man analysenreine Inklusen soviel man will. Ich behalte mir ihre Analyse vor, da meine Präparate verloren gingen und das Ausgangsmaterial jetzt noch fehlt.

---

[1]) 1 g Saponariakrystalle gaben 0,2440 CaO = 63,6 % der Formel $CaC_2O_4 + H_2O$; auf 6 H_2O berechnet, würde der gefundene Wert ungefähr stimmen, und es ist durchaus möglich, daß er richtig ist, da für tetragonales Calciumoxalat 6 Mol Krystallwasser angegeben werden (vgl. Czapek, Biochem. d. Pflanzen **1905**, 420).

[2]) Krystalle mit H_2SO_4 gespalten und die Oxalsäure umkrystallisiert gab bei der Titration 99,39 % der berechneten Menge ($C_2H_2O_4 + 2\,H_2O$).

Über Adsorption und Adsorptionsverbindungen.

5. Mitteilung.

Die Adsorptionsverbindungen des Kupferhydroxyds.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem physiol. Institute der Univ. Budapest. Direktor: weiland Prof. Franz Tangl.)

(Eingegangen am 13. November 1918.)

Unseren rein empirischen Kenntnissen über die auf Reduktion von $Cu(OH)_2$ beruhenden Zuckerbestimmungsmethoden kann eine wissenschaftliche Grundlage nur durch das Studium der komplexen Verbindungen des $Cu(OH)_2$ gegeben werden.

An diesen Zuckerreaktionen haben wohl Chemiker und Physiologen seit jeher fleißig gearbeitet; doch war zu einer Zeit, wo die rein stöchiometrische Auffassung der chemischen Vorgänge naturgemäß vorgeherrscht hat, schlechterdings keine Aufklärung über Vorgänge zu erhalten, die eher von kolloidchemischem Gesichtspunkt beurteilt werden müssen.

Graham hat zuerst darauf hingewiesen, daß die Lösungen von $Cu(OH)_2$ in Saccharoselösungen kolloid sind, weil sie nicht durch Pergamentmembranen dialysieren. Zur Lösung des $Cu(OH)_2$ ist ein Überschuß an Lauge und Zucker notwendig; wenn man diese wegdialysiert, fällt das gelöste $Cu(OH)_2$ aus. Ähnliche Verbindung mit Kupferhydroxyd liefern auch Seignettesalz, Glycerin, andere mehrwertigen Alkohole und auch Ammoniak. Nicht unter allen Bedingungen entstehen aber Lösungen des $Cu(OH)_2$, sondern nur durch Einhalten bestimmter Mengenver-

hältnisse, wobei auch der kolloidale Zustand des $Cu(OH)_2$ eine wichtige Rolle spielt. Zuerst hat van Bemmelen den Wassergehalt des $Cu(OH)_2$ vom kolloid-chemischen Standpunkte untersucht; darüber aber, wie sich das $Cu(OH)_2$ anderen Substanzen gegenüber verhält, wissen wir sehr wenig, obzwar eben aus Untersuchungen der vorher erwähnten Komplexe eine Erklärung der Erscheinungen zu erwarten ist. Deswegen habe ich im Jahre 1911 zunächst das Verhalten des $Cu(OH)_2$ untersucht, wenn es Ionen gegenüber als Adsorbens figuriert.

1. Über Adsorptionen durch $Cu(OH)_2$.

Das blaue $Cu(OH)_2$ bildet sich bekanntlich, wenn man eine Kupfersalzlösung mit überschüssiger Lauge versetzt, ist aber wenig beständig und wird mit der Zeit in schwarzes CuO verwandelt. Diese Umwandlung wird durch Erhitzen befördert.

Wenn man die Cuprisalzlösung nicht mit überschüssigem Alkali versetzt, bilden sich basische unlösliche Cuprisalze, die sich mit der Zeit nicht schwärzen und von variierender Zusammensetzung sind[1]).

Nicht nur die Wasserbindung dieser zwei Substanzen, $Cu(OH)_2$ und CuO, vollzieht sich nicht nach stöchiometrischen Gesetzen, sondern auch ihre Alkalibindung. Dafür soll nur als Beispiel erwähnt werden, daß bei den Zuckerbestimmungen die Chemiker die CuO-Mengen nicht nach stöchiometrischen Gesetzen auf Cu-Mengen, sondern nach empirischen Tabellen umrechnen; als Beispiel mögen die Werte von Fernau[2]) dienen, der bei größeren CuO-Mengen verhältnismäßig weniger Cu findet als bei kleineren.

Bei diesen Versuchsbedingungen arbeitet man aber mit sehr komplizierten Systemen, weshalb ich zunächst die einfacher zusammengesetzten behandeln möchte.

---

[1]) Schon in wäßrigen Lösungen des $CuSO_4$, die stark hydrolysieren (Rötung des blauen Lackmuspapieres!), muß es zu einer Bildung löslicher, komplexer $Cu(OH)_3$-Verbindungen kommen, was bereits daraus hervorgeht, daß das eine Hydrolysenprodukt, das $Cu(OH)_2$, das doch in einer Cu-Sulfat nicht enthaltenden wäßrigen Flüssigkeit praktisch unlöslich ist, in Lösung bleibt, resp. aus dieser Lösung nicht ausfällt.

[2]) Zit. nach Lippman, Chemie der Zuckerarten 1, 588.

Salkowski[1]) hat beobachtet, daß bei der Ausscheidung des $Cu(OH)_2$ mehr Lauge aus der Lösung verschwindet, als nach stöchiometrischen Gesetzen erwartet werden sollte. Salkowski führt dies allerdings darauf zurück, daß beim Filtrieren der Lösungen durch das Filtrierpapier ein Teil der Lauge adsorbiert wurde, nicht aber durch $Cu(OH)_2$. Ich konnte wohl bestätigen, daß mehr Lauge von $Cu(OH)_2$ gebunden wird, als es nach der stöchiometrischen Gleichung zu erwarten wäre, kann dies jedoch nicht auf die Wirkung des Filtrierpapiers zurückführen, weil es sich einerseits zeigte, daß die ersten durchfiltrierten Teile nicht weniger Lauge enthielten als der Rest, andererseits kann das benutzte Papier in der vorhandenen Menge nicht so viel Lauge adsorbieren[2]).

Für die Laugenadsorption durch $Cu(OH)_2$ spricht auch schon die Tatsache, daß $Cu(OH)_2$-Niederschläge nur sehr schwer beim Waschen alles Alkali abgeben.

Bei meinen Versuchen habe ich eine $CuSO_4$-Lösung von bestimmter Konzentration mit titrierten überschüssigen Mengen von KOH versetzt und die Mischung auf 100 ccm aufgefüllt, den Niederschlag schnell abfiltriert, einen aliquoten Teil des Filtrates titriert und die freie Menge Lauge auf 100 ccm berechnet. Dabei habe ich wohl das Volumen des Niederschlages vernachlässigt, was jedoch berechtigt ist, weil der Niederschlag wohl sehr voluminös aussieht, doch nur ein sehr geringes Volumen besitzt, wovon ich mich einfach durch Zentrifugieren in kalibrierten Gefäßen überzeugt habe. Der Niederschlag wurde während des Zentrifugierens, bevor er ein konstantes Volumen annahm, immer verfärbt (Umwandlung in CuO); deshalb teile ich genaue quantitative Daten nicht mit.

Die Versuche habe ich teils mit dem blauen $Cu(OH)_2$, teils mit dem schwarzen CuO ausgeführt, wobei zu bemerken ist,

---

[1]) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. 71, 320, 1872.

[2]) Selbstverständlich besteht noch immer bei den Versuchen von Salkowski die Möglichkeit, daß bei ihm auch das Filtrierpapier adsorbierend gewirkt hat. Seine Versuche wurden ja zu einer Zeit ausgeführt, wo noch nicht die heute gebrauchten, viel feineren Filterpapierarten zur Verfügung standen, und wenn er bedeutend größere Mengen von Filtrierpapier (dickere Lagen) benutzt hat, konnte wenigstens teilweise auch die Adsorption des Papiers eine Rolle spielen.

daß bei Versuchen über die Alkalibindung des blauen $Cu(OH)_2$ die Fehler ziemlich große sind, eben weil sich ein geringer Teil des Hydroxydes immer zu Oxyd verwandelt, und, wie wir sehen werden, dadurch die OH-Ionenbindung vergrößert wird.

Tabelle I.

$CuSO_4$ l	NaOH zugesetzt ccm	NaOH gebunden ccm	Gesamt-volumen ccm	Farbe des Niederschlages	
10	26,64	25,39	100	blau	NaOH l = n/10
10	28,50	25,86	100	„	$CuSO_4$ l = n/4
10	36,79	26,71	100	„	(ungefähr)
10	48,75	27,32	100	„	
10	48,98	26,95	100	„	
10	49,00	26,72	100	„	
10	49,25	26,85	100	„	
10	48,00	27,34	100	schwarz	
10	48,30	27,10	100	„	
10	48,72	27,52	100	„	
10	49,52	27,54	100	·	

Aus Tabelle I ist ersichtlich, daß $Cu(OH)_2$ tatsächlich in verdünnteren Laugenlösungen weniger OH' aufnimmt als in konzentrierteren. Für Adsorptionsverhältnisse ist es auch charakteristisch, daß in verdünnteren Lösungen die Zunahme der Bindung sehr schnell wächst. Es zeigt sich auch, daß die schwarzen Hydroxyde unter gleichen Bedingungen mehr Alkali binden als die blauen, was wieder beweist, daß die Erscheinung nicht nach Auffassung Salkowskis auf Bindung des Alkali durch Filterpapier zurückzuführen sei[1]).

Die weitere Aufgabe war, die Adsorptionsverhältnisse anderer Ionen zu untersuchen. Daß die Adsorption der Ionen unbedingt eine wichtige Rolle im Verhalten der Hydroxyde besitzt, beweist schon die Tatsache, daß sich nicht alle blauen Hydroxyde mit der Zeit gleich schnell schwarz färben, so bleiben z. B. aus Cupriacetatlösungen gefällte Hydroxyde viel länger blau als die aus $CuSO_4$-Lösungen gefällten.

[1]) Die schwarzen Hydroxyde konnten deswegen nur in konzentrierteren Alkalilösungen untersucht werden, weil nur in diesen eine vollständige Umwandlung in die schwarze Modifikation unter den von mir benutzten Versuchsbedingungen stattfinden kann.

Als ein leicht und genau bestimmbares Ion habe ich vorläufig das Jodat zu diesen Bestimmungen gewählt.

Tabelle II.

$CuSO_4$ ccm	Gesamtvolumen ccm	NaOH ccm	HJO_3 zugegeben ccm	HJO_3 gefunden ccm	HJO_3 gebunden ccm	Farbe des Niederschlages
10	100	46,30	15,37	14,96	0,41	blau
10	100	46,30	19,95	19,56	0,39	„
10	100	46,30	20,10	19,68	0,42	„
10	100	46,30	24,98	24,28	0,70	„
10	100	46,30	25,95	25,44	0,50	„
10	100	46,30	15,00	14,96	0,04	schwarz
10	100	46,30	15,05	14,96	0,09	„
10	100	46,30	19,45	19,48	– 0,03	„
10	100	46,30	20,15	20,08	0,07	„
10	100	46,30	25,15	25,08	0,07	„

Aus Tabelle II ist ersichtlich, daß sich die Jodatbindung gerade umgekehrt verhält, wie die OH′-Bindung bei blauem und schwarzem Hydroxyd. Von dem blauen Hydroxyd wird weniger OH′ und mehr JO_3' gebunden, bei dem schwarzen umgekehrt. Bei diesem sind die Mengen des gebundenen JO_3'' nur ganz minimale. Aber auch unter diesen Bedingungen bindet Lauge in Gegenwart von Jodationen das blaue $Cu(OH)_2$ weniger als das schwarze. Daß in geringeren Laugenkonzentrationen weniger Lauge gebunden wird, wird aus der folgenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle III.

Blauer Niederschlag $^n/_{10}$-NaOH zugesetzt ccm	Blauer Niederschlag $^n/_{10}$-NaOH gebunden ccm	Schwarzer Niederschlag $^n/_{10}$-NaOH zugesetzt ccm	Schwarzer Niederschlag $^n/_{10}$-NaOH gebunden ccm
43,57	34,07	43,76	34,87
43,81	34,39	43,77	34,97
45,02	34,12	45,01	34,87
45,06	34,30	45,18	35,22
46,19	34,29	46,27	34,75
46,36	34,86	46,29	34,99

In den weiteren Versuchen sollte die Wirkung des Zuckers auf das $Cu(OH)_2$ untersucht werden, und zwar unter solchen

Versuchsbedingungen, wo $Cu(OH)_2$ nicht in Lösung geht. Unter diesen Versuchsbedingungen wissen wir, daß einerseits Zucker durch den Niederschlag aufgenommen wird, der sich nur sehr schwer aus dem $Cu(OH)_2$ wieder auswaschen läßt, andererseits aber die Gegenwart des Zuckers die Schwarzfärbung des $Cu(OH)_2$ verhindert. Schon dies weist darauf hin, daß die OH'-Bindung durch Zucker beeinflußt wird. Deswegen habe ich die OH'-Bindung des $Cu(OH)_2$ in Gegenwart von Zucker untersucht. (Die Versuche wurden mit Rohrzucker ausgeführt.)

Tabelle IV.

$CuSO_4$ ccm	NaOH ccm	Rohrzuckerlösung 1% ccm	NaOH im Filtrat ccm
20	50	0	0,44
20	50	5	0,80
10	30	0	0,10
10	30	5	0,38
10	35	0	1,96
10	35	5	5,28
10	40	0	6,36
10	40	5	7,24

Aus Tabelle IV ergibt sich, daß tatsächlich Zucker die Adsorption der Lauge durch $Cu(OH)_2$ derart beeinflußt, daß er die Lauge vom $Cu(OH)_2$ verdrängt; dem entspricht auch, daß durch die Gegenwart von Zucker die Schwarzfärbung des $Cu(OH)_2$ verhindert wird, es wird nämlich — wie wir gesehen haben — durch das schwarze Hydroxyd mehr Lauge gebunden.

Durch diese Versuche ist also erwiesen, daß bei den unlöslichen Hydraten des Kupferhydroxyds Adsorptionsverbindungen eine wichtige Rolle spielen, die sowohl den Ionen wie den Zuckern zukommt.

2. Über die Kupferreduktion der Zuckerarten.

Die vorigen Versuche beweisen, daß Zucker auf die Adsorptionswirkung des $Cu(OH)_2$ große Wirkung ausüben können, wodurch sehr wahrscheinlich gemacht wird, daß auch in kolloiden Lösungen des $Cu(OH)_2$ solche Wirkungen vorhanden sind. Auf die hier waltenden komplizierteren Verhältnisse soll an anderer Stelle eingegangen werden. Hier möchte ich nur noch

darauf hinweisen, daß bei der Reduktion des $Cu(OH)_2$ noch andere Wirkungen eine wichtige Rolle spielen.

Durch die Versuche von Kohlschütter wurde nachgewiesen, daß bei der Reduktion von Silberlösungen durch Aldehyde die reduzierende Wirkung den durch Lauge entstehenden Kondensationsprodukten zukommt. Ganz ähnlich ist der Mechanismus der Zuckerreduktion, wovon man sich durch einen einfachen Eprouvettenversuch überzeugen kann.

Wenn man nämlich Dextrose- (oder eine andere reduzierende Zuckerlösung) mit Lauge erhitzt und nach dem Abkühlen zu einer alkalischen $Cu(OH)_2$ gießt, beobachtet man sofort oder nach kurzem Stehen eine Reduktion. Diese Reduktion entsteht unbedingt viel früher, als wenn man die kalte Zuckerlösung mit den anderen Reagenzien kalt gemischt hat, wodurch bekanntlich mit der Zeit auch eine Reduktion eintritt. Besonders stark wird die Reduktion, wenn man die Zuckerlösung ein paar Minuten lang kocht, bis die braune (Karamel-)Färbung auftritt.

Daraus folgt also, daß auch bei der Reduktion des $Cu(OH)_2$ durch Zucker die Reduktionswirkung durch höhere, wahrscheinlich kolloide Kondensationsprodukte verursacht wird, die sich aus dem Zucker erst gebildet hatten.

Über die Bildung des Milchzuckers in der Milchdrüse.

Von

F. Röhmann.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Instituts zu Breslau.)

(Eingegangen am 4. Dezember 1918.)

Nach früher beschriebenen Versuchen[1]) treten im Blute von trächtigen und, wie ich hinzufügen kann, auch säugenden Kaninchen, denen mit Umgehung des Darmkanals entsprechende Mengen von Rohrzucker unter die Haut gespritzt wurden, nach einiger Zeit Fermente auf, die den Rohrzucker spalten und Dextrose oder Lävulose in Milchzucker überführen. Da nun nach unseren bisherigen Kenntnissen Milchzucker nur in der Milchdrüse gebildet wird, mußte man annehmen, daß diese Fermente aus der Milchdrüse stammen und unter dem Einfluß der Rohrzuckereinspritzung aus der Milchdrüse in das Blut übertreten. Den Nachweis für die Richtigkeit dieser Annahme zu liefern, war der Zweck der folgenden Versuche.

Bei ihrer Ausführung wurde ich auf die Angabe von Hans Thierfelder[2]) über das Vorkommen einer zuckerbildenden Substanz in der Milchdrüse hingelenkt. In der Milchdrüse sei ein Stoff vorhanden, aus dem durch Fermentwirkung Milchzucker abgespalten werde, das Saccharogen. Es sei in Wasser löslich, in Alkohol und Äther unlöslich, durch Kochen werde es nicht zerstört, es sei nicht identisch mit Glykogen.

Diese Angaben stützen sich auf Versuche, in denen ein

---

[1]) Diese Zeitschr. 57, 380, 1913; 61, 464, 1914; 72, 26, 1915; 84, 382, 399, 1917.

[2]) Hans Thierfelder, Beiträge zur Kenntnis der Entstehung einiger Milchbestandteile. Inaug.-Diss. Rostock 1883. Derselbe, Zur Physiologie der Milchbildung. Arch. f. d. ges. Physiol. 32, 619, 1883.

Brei der Milchdrüse mit Kochsalzlösung, Blutserum oder einen Dekokt der Milchdrüse in der Wärme 3 bis 4 Stunden stehen gelassen und durch Titrieren mit Kupfersulfat und Natronlauge nach einer noch recht unvollkommenen Methode das Reduktionsvermögen bestimmt wurde. Aus der Zunahme des letzteren schloß Thierfelder auf die Bildung von Milchzucker. Beweise für die Annahme, daß das Reduktionsvermögen wirklich von Milchzucker herrühre, vermochte er nicht zu erbringen; sie sei aber die „einfachste und nächstliegendste".

Daß die Reduktion in einem Milchdrüsenextrakt beim Stehen zunimmt, läßt sich nach Entfernung des koagulierbaren Eiweiß, wie die folgenden Versuche zeigen werden, durch Titrieren mit Fehlingscher Lösung leicht bestätigen. Mit Hilfe der Phenylhydrazinprobe kann man aber heutzutage sofort feststellen, daß der gebildete Zucker nicht Milchzucker ist. Er gibt Phenylglucosazon. Der Zucker gärt und dreht die Ebene des polarisierten Lichts nach rechts, ist also d-Glucose.

Von dem Ferment, durch das der Zucker aus dem Saccharogen abgespalten wird, sagt Thierfelder, daß es nicht in den wäßrigen Auszug der Milchdrüse übergehe. Bringe man nämlich einen kalt bereiteten, kochsalzhaltigen Auszug der Milchdrüse mit einer Drüsenabkochung, die das Saccharogen enthält, zusammen und lasse beides in der Wärme stehen, so trete keine Zuckerbildung ein. Würde aber die Milchdrüsensubstanz selber nach möglichst feiner Zerkleinerung mit dem Drüsendekokt in die Wärme gestellt, so erfolge die Zunahme der Reduktion. Das beweist aber noch nicht die Unlöslichkeit des Ferments.

Wir kennen heutzutage Zymogene, können also annehmen, daß bei der Herstellung des Kochsalzextraktes aus der Milchdrüse das in Kochsalz unlösliche, an den Zellen haftende Zymogen noch nicht aktiviert und infolgedessen der Extrakt unwirksam war. Stand aber das Dekokt mit dem Milchdrüsengewebe einige Stunden in der Wärme, so trat Aktivierung des Zymogens und Lösung des Fermentes ein.

Die d-Glucose, die im Milchdrüsenextrakt bei der Digestion entstanden ist, kann nun, wie die folgenden Versuche zeigen, weitere fermentative Umwandlungen erfahren. Durch eine Gluco-Fructokinase[1]) kann sie in Lävulose übergeführt werden. Es zeigte

[1]) Diese Zeitschr. 72, 47, 1915.

sich dies daran, daß in den betreffenden Versuchen die anfängliche Rechtsdrehung mehr oder weniger schnell in eine Linksdrehung übergeht. Unter Umständen drehte der autolysierte Extrakt von vornherein links und nahm die Linksdrehung mit dem Reduktions- und Gärungsvermögen zu. Die Bildung von Aminosäuren, die neben der Zuckerbildung in wechselnder Stärke erfolgte, hatte mit dieser Linksdrehung nichts Wesentliches zu tun. Aus der Lävulose kann durch eine weitere Stereokinase Galaktose entstehen und diese alsbald mit noch vorhandener oder aus d-Fructose zurückgebildeter d-Glucose durch eine Galaktosidoglucese zu Milchzucker vereinigt werden. Wenn dieser rechtsdrehende Zucker entsteht, kann die Linksdrehung wieder abnehmen, auch das Reduktionsvermögen sinken, da Milchzucker Fehlingsche Lösung schwächer als d-Glucose und d-Fructose reduziert, ebenso das Gärvermögen, da der Milchzucker von der verwendeten Preßhefe nicht vergoren wurde. Verfolgt man gleichzeitig das Verhalten des Phenylosazons, so sieht man, wie neben dem Glucosazon andere krystallinische Massen auftreten, die sich in heißem Wasser lösen und beim Erkalten in den früher beschriebenen krystallinischen Formen[1]) sich wieder ausscheiden. Die Menge dieses löslichen Osazons weist auf die Menge des gebildeten Milchzuckers hin. Eine noch bessere Vorstellung von ihr erhält man, wenn man die Menge der Schleimsäure bestimmt, die sich bei der Oxydation mit Salpetersäure bildet. Tritt nach einigen Tagen keine Änderung der Drehung und Reduktion ein, so läßt sich in den geeigneten Fällen der Milchzucker rein darstellen.

Der Grad der Glucosebildung in den Milchdrüsenextrakten und der Umfang, in dem die Überführung in d-Fructose und Lactose stattfindet, hängt anscheinend außer von anderen Einflüssen ganz besonders von dem Zustande der Tätigkeit ab, in dem sich die Drüse des betreffenden Tieres zur Zeit des Todes befand. Zu meinen Versuchen konnte ich nur die Euter von Kühen benutzen, die mir einige Stunden nach dem Schlachten gebracht wurden. Ich mußte mich mit der Angabe von „hochträchtigen", „frischmilchenden" usw. Tieren begnügen. Systematische Versuche unter genauer Berücksichtigung der Zeit

[1]) Diese Zeitschr. 72, 99, 1915.

der Trächtigkeit oder Säugung anzustellen, war unter den obwaltenden, durch den Krieg bedingten Verhältnissen ausgeschlossen. So wechselten denn die Ergebnisse bei den verschiedenen Versuchen.

In einer Reihe von Versuchen wurde nur die Bildung von d-Glucose beobachtet, in anderen erfolgte mehr oder weniger schnell der Übergang in Lävulose; die Milchzuckerbildung setzte früher oder später ein und zeigte verschiedene Stärke.

Durch die Bildung von d-Glucose im Milchdrüsenextrakt und die weitere Umwandlung durch die milchzuckerbildenden Fermente wurde die Beantwortung der Frage, ob Rohrzucker in einem solchen Extrakte gespalten wird, wesentlich erschwert. Anfangs glaubte ich aus dem Auftreten der Reduktion, der Abnahme der Rechtsdrehung und der Bildung von Glucosazon in den mit Rohrzucker versetzten Extrakten auf eine Spaltung des Rohrzuckers schließen zu dürfen und wurde erst später durch die Kontrollversuche auf die Zuckerbildung aus Stoffen der Milchdrüse selbst aufmerksam. Unter genauer Berücksichtigung der Ergebnisse des Kontrollversuchs ließ sich aber in einer Anzahl von Versuchen mit Sicherheit auf eine Spaltung des Rohrzuckers und auf eine Umwandlung seiner Spaltungsprodukte schließen. Selbstverständlich muß bei solchen Versuchen eine Bakterien- oder Säurewirkung sorgfältig ausgeschlossen sein.

Über die Art, wie sich die d-Glucose im Extrakt der Milchdrüse bildet, kann ich zunächst nur sagen, daß es sich nicht um eine Glucosidspaltung handelt. Erhitzt man einen frischen Drüsenextrakt mit 2- bis 10%iger Schwefelsäure, so nimmt zwar das Reduktionsvermögen etwas zu, aber die Zunahme ist gering und entspricht, wie das Verhalten der Osazone zeigt, der Spaltung geringer Mengen von Milchzucker, die von vornherein im Milchzuckerextrakt enthalten sind.

Auch der Niederschlag, den man im Extrakt bei vorsichtigem Zusatz von Säure erhält, ist nicht an der Glucosebildung beteiligt, obgleich die starke Molischsche Probe, die er gibt, darauf hindeuten könnte. Denn auch das Filtrat dieses Niederschlags liefert in anscheinend unverminderter Menge beim Stehen in der Wärme d-Glucose. Es enthält auch die milchzuckerbildenden Fermente.

Die Vorstellung, die ich mir von der Entstehung des Milchzuckers in der Milchdrüse mache, ist die folgende: Nach Versuchen von Paul Bert[1]), C. Porcher[2]) und M. Kaufmann-H. Magne[3]) wird der Milchdrüse mit dem Blutstrome als Stoff für die Milchzuckerbildung Traubenzucker zugeführt. Er wird, wie ich annehme, nicht immer, vielleicht aber überhaupt nicht unmittelbar weiter verarbeitet, sondern zunächst in eine bisher noch unbekannte Zwischensubstanz übergeführt. Sie dient gewissermaßen als Puffer, speichert die d-Glucose, zerfällt aber unter dem Einfluß eines bisher unbekannten fermentativen Vorganges je nach dem Tätigkeitszustand der Drüse mehr oder weniger schnell wieder unter Bildung von d-Glucose. Der Zucker ist in ihr nicht in Glucosidbindung enthalten.

Auf die d-Glucose wirken in der tätigen Milchdrüse Enzyme, die sich aus Zymogenen bilden, und zwar eine Stereokinase, die d-Glucose in d-Fructose überführt, und eine weitere, die d-Galaktose bildet. Durch die Wirkung eines synthetisierenden Enzyms, einer Galaktosidoglucese, werden d-Galaktose- und d-Glucosegruppen zu Lactose vereinigt.

Die Menge dieser Enzyme und somit die Möglichkeit, sie nachzuweisen, wechselt vermutlich mit dem Funktionszustand der Drüse. Näheres muß durch weitere Versuche festgestellt werden.

Versuche.

Milchdrüse 36, Kuh gegen Ende der Tragzeit.

I. Heißwasserextrakt. 26. VI. 18. Ein Teil der in der Fleischmaschine zerkleinerten Drüse wird auf 1 g mit 1 ccm Wasser erhitzt. Extrakt durch ein Sieb abgegossen, mit verdünnter Salzsäure versetzt, bis empfindliches rotes Lackmoidpapier fast nicht mehr gebläut wird, dann erhitzt und filtriert. Die Lösung wird im 1-dcm-Rohr polarisiert und nach Pavy titriert.

$\alpha \pm 0{,}0$, 40 Pavy 4,1 und 4,6.

Derselbe Extrakt, nachdem er 3 Stunden im kochenden Wasserbade mit 2%iger Schwefelsäurelösung am Rückflußkühler erhitzt worden war.

$\alpha + 10'$, 40 Pavy 3,3.

Ein Teil des Extraktes wird auf dem Wasserbade eingedampft. Der verhältnismäßig geringe, leimartige Rückstand liefert bei der Oxy-

[1]) Compt. rend. **98**, 775, 1884.
[2]) Diese Zeitschr. **23**, 370, 1909.
[3]) Compt. rend. **143**, 779, 1906.

dation mit Salpetersäure einen weißen körnigen Niederschlag, der sich in verdünnter Natronlauge löst, nach dem Ansäuern mit Salpetersäure wieder ausfällt und Pyrrolreaktion gibt. (Schleimsäure.)

Der Extrakt der Milchdrüse enthält also geringe Mengen Milchzucker und keine andere Substanz, die bei der Hydrolyse d-Glucose bildet.

II. Chloroformwasserextrakt.

27. VI. 18. Nach 1tägigem Liegen wird die Milchdrüse zerkleinert und auf 1 g mit 2 ccm Chloroformwasser, dem 0,5% Natriumbicarbonat zugesetzt sind, angerührt und einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Der Extrakt wird durch ein Sieb abgegossen.

a) Kleinere Proben werden mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid erhitzt. Das Filtrat wird polarisiert und zur Reduktions- und Phenylhydrazinprobe benutzt.

28. VI. 18. $\alpha + 20'$, Glucosazon.

29. VI. $\alpha + 58'$, Glucosazon und sehr reichlich kleine Kugeln. Osazon zum großen Teil in heißem Wasser löslich, beim Erkalten nur ziemlich stark lichtbrechende Kugeln.

1. VII. $\alpha + 50'$, Osazon ebenso.

b) Proben von 50 ccm werden unter Anwendung von rotem Lackmoidpapier mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert.

27. VI. $\alpha - 20'$, nach dem Erkalten geringer Osazonniederschlag, gelb, körnig kleine sternförmige runde Gebilde.

40 Pavy 7,8, 7,7.

Nach 3stündigem Erhitzen mit 2%iger Schwefelsäure:

$\alpha - 8'$, Glucosazon und Sterne aus gelben, lanzettlichen Plättchen, auch dunklere, streifige Kugeln.

40 Pavy 4,7.

Der Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt enthält also vor der Autolyse kleine Mengen Milchzucker wie der Heißwasserextrakt.

28. VI. $\alpha \pm 0,0$, 40 Pavy 1,5.

29. VI. $\alpha + 1^0 55'$, Glucosazon und sehr reichlich große und kleine Kugeln.

1. VII. $\alpha + 2^0 10' = 4,2\%$ Traubenzucker. 1:8 verdünnt 10 Fehling 8,9 = 4,5% Traubenzucker.

3. VII. $\alpha + 2^0 5'$.

Ergebnis. Bei der Autolyse des Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extraktes der Milchdrüse bildet sich d-Glucose und nur eine geringe Menge von Milchzucker. d-Glucose bildet sich nicht beim Erhitzen des Extraktes mit 2%iger Schwefelsäure.

Milchdrüse 38, von frischmilchender Kuh.

18. VII. 18. Heißwasserextrakt, neutralisiert, erhitzt, filtriert. $\alpha + 2'$, 40 Pavy 11,0.

Nach 3stündigem Erhitzen mit 2%iger Schwefelsäure:

$\alpha + 0,0$, 40 Pavy 6,5.

400 ccm eingedampft, mit Salpetersäure oxydiert, sehr geringe Menge Schleimsäure.

18. VII. a) Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt vor der Autolyse, neutralisiert, erhitzt, filtriert.

α — 12′, reduziert, ohne daß sich das Kupferoxydul ausscheidet; geringe Menge typisches Glucosazon. 40 Pavy mehr als 17 ccm.

Nach 7 stündigem Erhitzen mit 2%iger Schwefelsäure:

α — 22′, 40 Pavy, 9 bis 10 ccm, wenig Glucosazon und schmale lanzettliche Plättchen (wie auch im Heißwasserextrakt).

b) Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt während der Autolyse. Proben mit gleichem Volumen Wasser verdünnt, mit essigsaurem Eisen erhitzt.

18. VII. 18. α ± 0,0, keine deutliche Reduktion.

19. VII. α + 4′, starke Reduktion, zögernd, Glucosazon sehr schwach bewachsen.

20. VII. α + 16′, Brei von Glucosazon.

22. VII. α + 23′, Brei von Glucosazon.

23. VII. α + 29′, Glucosazon wenig bewachsen.

24. VII. α + 29′, Glucosazon und wenig Kugeln, in heißem Wasser löslich. 1 : 3 verdünnt, 10 Fehling 6,3 = 2,4% Zucker.

17. IX. α + 28′ = 1,8% Traubenzucker. 1 : 4 verdünnt, 10 Fehling 7,3 = 2,7% Traubenzucker. Nach Gärung 2,2% Traubenzucker.

c) 26. VII. 1270 ccm des autolysierten Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakts werden neutralisiert, erhitzt, filtriert und im Vakuum der Wasserstrahlpumpe eingeengt. Abscheidung von Tyrosin, beim weiteren Einengen unter Zusatz von Alkohol Gemisch von Tyrosin und „Leucin“.

In Alkohol schwer löslicher Sirup, in Wasser gelöst, mit Kohle behandelt: α + 52′. Nach 5facher Verdünnung 10 Fehling, 4,8 = 5% Traubenzucker. Nach Gärung 4% Traubenzucker.

In verdünntem Alkohol löslicher Anteil im Vakuum eingeengt: nochmalige Abscheidung von „Leucin“. Sirup etwa 23 g. Probe in Wasser gelöst: α + 46′. 10 Fehling, 3,85% Traubenzucker. Gärung 1,7%.

Ergebnis. Der Heißwasser und Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt enthält vorgebildet geringe Menge von Milchzucker. Bei der Autolyse bildet sich wesentlich d-Glucose neben Tyrosin und anderen Aminosäuren.

Michdrüse 42 von frischmilchender junger Kuh.

Nach 1 tägigem Liegen wird die Drüse zerkleinert und auf 1 g mit 2 ccm einer 0,5%igen $NaHCO_3$-Lösung ohne Zusatz eines Antiseptikums einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

A. Autolyse des Milchdrüsenextraktes nach Zusatz von Toluol.

a) Proben mit gleicher Menge Wasser verdünnt und mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid erhitzt.

4. X. 18. α ± 0,0.

5. X. Gewebsstückchen zusammen mit ausgefallenem Eiweiß an der Oberfläche, schwach fauliger Geruch, Flüssigkeit noch durch Blutfarbstoff rötlich gefärbt, Reaktion auf Lackmus schwach alkalisch. $\alpha + 5'$, kein Osazon.

7. X. $\alpha - 14'$, Glucosazon reichlich.

8. X. $\alpha - 57'$, starke Reduktion, dicker Brei von Glucosazon.

9. X. $\alpha - 41'$, Brei von Glucosazon, nur wenig löslich in heißem Wasser.

11. X. $\alpha - 53'$.

Reaktion für rotes Lackmoid schwach alkalisch, für blaues Lackmus schwach sauer.

b) 50 ccm mit 4 bis 5 Tropfen verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert.

$\alpha - 2^0\ 19' = 2{,}5\,^0/_0$ Lävulose.

1 : 4 verdünnt, 10 ccm Fehling reduziert von $7{,}0 = 2{,}8\,^0/_0$ Zucker, Gärung $3{,}0\,^0/_0$ Zucker.

Formoltitrierung: 10 ccm Filtrat, mit 5 ccm Formol und 1 ccm $1\,^0/_0$iger Phenolphthaleinlösung. Zur Neutralisation erforderlich 2,7 bzw. 2,9 ccm $^1/_4$ N. NaOH.

Ergebnis. Bei der Autolyse des Milchdrüsenextraktes bildet sich Lävulose.

31. X. Mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert.

$\alpha - 2^0\ 22'$.

1 : 4 verdünnt: 10 Fehling 7,7. Gärung $3{,}1\,^0/_0$ Traubenzucker. Formoltitrierung 2,8 bis 2,9.

B. Autolyse nach Zusatz von etwa $4\,^0/_0$ Rohrzucker und Toluol.

4. X. 18. $\alpha + 1^0\ 2'$.

5. X. Eiweiß ausgefallen, Geruch nicht faulig, Flüssigkeit trübe. Zusatz von Toluol. $\alpha + 52'$, nur Glucosazon (?)

7. X. $\alpha + 11'$ nur Glucosazonbrei

8. X. $\alpha + 1^0\ 12'$ „ Glucosazon

9. X. $\alpha + 1^0\ 35'$ „ „

14. X. $\alpha + 1^0\ 10'$ „ „

30. X. Flüssigkeit opalescent, für Lackmoid neutral, für Lackmus schwach sauer, ohne Säurezusatz erhitzt. Es koaguliert etwas Eiweiß, filtriert, Filtrat etwas trübe.

1 : 4 verdünnt $\alpha + 35' = 1{,}1\,^0/_0$ Traubenzucker, unverdünnt $= 4{,}4\,^0/_0$ Traubenzucker, 10 Fehling $6{,}5 = 0{,}77\,^0/_0$ Traubenzucker, unverdünnt $= 3{,}1\,^0/_0$ Traubenzucker, nur Glucosazon, Gärung $5{,}7\,^0/_0$ Traubenzucker. Formoltitrierung 1,2 bis 1,4.

Ergebnis. Es läßt sich nicht entscheiden, ob Rohrzucker gespalten wurde. Die Reduktion ist annähernd die gleiche wie im Autolysat ohne Rohrzuckerzusatz. Die Spaltung der Eiweißkörper ist geringer als in der Kontrollprobe.

Milchdrüse 32 von Kuh, über die Hälfte der Tragzeit. Drüse sehr weich.

1. V. 18. Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt.

A. Wenige Stunden nach dem Schlachten untersucht, enthält nur geringe Mengen Milchzucker.

B. Autolyse bei 43°.

1. V. 18. $\alpha + 5'$, reduziert sehr schwach, schon am selben Nachmittag hat sich eine reichliche Menge Eiweißflocken ausgeschieden. Reaktion mit Lackmus neutral.

2. V. $\alpha - 12'$, reduziert sofort stark. Glucosazon (rein?).

4. V. $\alpha - 31'$, nur Glucosazon, etwas löslich in heißem Wasser.

6. V. $\alpha - 42'$, Glucosazon sehr wenig bewachsen.

7. V. $\alpha - 40'$.

10. V. 175 ccm werden mit verdünnter Salzsäure neutralisiert (für Lackmoid schwach alkalisch, Lackmus sauer), erhitzt, eingeengt filtriert: Vol. 145 ccm. $\alpha - 1^0\ 30'$; mit Bleiacetat gefällt, Filtrat mit H_2S, Filtrat eingeengt auf 80 ccm. $\alpha - 2^0\ 25' = 2{,}6\,\%$ Lävulose.

1 : 5 verdünnt 10 Fehling 9,3 = 2,7 % Zucker, nur (?) Glucosazon.

Rest eingedampft, Rückstand gering, wenige Gramm, weißlich sirupös.

C. 200 ccm mit 8 g Rohrzucker und 1 ccm 10%iger alkoholischer Thymollösung.

1. V. 18. $\alpha + 1^0\ 8'$.

2. V. $\alpha - 24'$, sofort Ausscheidung von Glucosazon, daneben erheblich mehr lösliche Osazone als bei B.

3. V. $\alpha + 58'$, Glucosazon und sehr reichlich kleine Kugeln aus Nadeln (typisches Bild).

4. V. $\alpha + 1^0$, sehr starke Zunahme der löslichen Osazone.

6. V. $\alpha + 1^0\ 5'$, dunkle Kugeln aus feinen Nadeln (ebenso).

13. V. Rest mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert, eingeengt, wiederholt unter Zusatz kleiner Mengen Alkohol auf dem Wasserbade abgedampft. Beim Stehen Krystallbrei mit verdünntem Alkohol (1 Wasser, 2 Alkohol) angerührt, stehen gelassen, vor der Saugpumpe abgesaugt und mit verdünntem Alkohol gewaschen.

Ausbeute etwa 10 g Milchzucker, schneeweiß, wenig aschehaltig.

0,5251 g geben bei der Oxydation mit Salpetersäure 0,1717 g = 32,7 % Schleimsäure, ca. 2 % Lösung, $\alpha + 1^0\ 4'$. 1 : 3 verdünnt 10 Fehling 10,7.

0,2 g in 10 ccm Wasser gelöst. Osazon vollkommen löslich, beim Erkalten nur typisches Laktosazon.

Mutterlauge ca. 23,0 g. 1 g liefert 0,01 g Schleimsäure.

ca. 2,5%ige Lösung, $\alpha - 6'$. 10 Fehling 6,2. Glucosazon stark bewachsen, kleiner Teil in heißem Wasser löslich.

Ergebnis. Bei der Autolyse des Extraktes bildete sich fast nur Lävulose. Etwa sich bildende d-Glucose schien also durch gleichzeitig vorhandene Gluco-Fructokinase in Lävulose übergeführt zu werden. Zugesetzter Rohrzucker wurde invertiert und zum Teil in Milchzucker übergeführt. Es fällt auf, daß die Milchzuckerbildung ohne Rohrzucker-

zusatz nicht in ähnlicher Stärke erfolgt wie in der Probe mit Rohrzuckerzusatz.

Milchdrüse 40, von frischmilchender Kuh.

A. 20. IX. 18. Chloroformwasser - $NaHCO_3$ - Extrakt nicht autolysiert, mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert. α — 21′, nach dem Erhitzen mit essigsaurem Eisen α ± 0,0. Formoltitrierung 0,75 bis 0,85.

B. Derselbe unter Zusatz von Toluol autolysiert.

a) Mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid erhitzt nach Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser.

20. IX. 18. α ± 0,0.

21. IX. α + 7′, reduziert, verhältnismäßig wenig typisches Glucosazon.

23. IX. α ± 0,0, reduziert stark.

24. IX. α + 18′.

25. IX. α + 8′, Osazon ziemlich reichlich, Glucosazon?

b) Mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert.

21. IX. α + 55′ = 1,7 % Traubenzucker, verdünnt 1 : 3 10 Fehling 6,2 = 2,4 % Traubenzucker. Gärung 1,7 % Traubenzucker.

23. IX. α + 39′, nur Glucosazon.

24. IX. α + 46′, verhältnismäßig wenig Glucosazon, zahlreiche größere und kleinere Kugeln in heißem Wasser zum Teil löslich. 1 : 4 verdünnt 10 Fehling 13,9 = 1,4 % Traubenzucker. Gärung 0,7 %. Formoltitrierung 0,7 bis 0,8.

25. IX. α + 32′, Glucosazon und sehr reichlich große und kleine Kugeln, verdünnt 1 : 3 10 Fehling 11,5 = 1,3 % Traubenzucker. Gärung 0,5 % Traubenzucker.

825 ccm nach Zusatz von verdünnter Salzsäure erhitzt, filtriert, eingeengt von einem neu entstehenden Niederschlag abfiltriert, mit 5 g Hefe in die Wärme gestellt, nach 6 Stunden mit Bleiacetat gefällt, H_2S, PbS-Filtrat eingeengt, der beim Stehen ausgeschiedene Niederschlag abgesaugt und mit verdünntem Alkohol gewaschen. Ausbeute 1,3 g Milchzucker. 0,2 g : 10 ccm Wasser gibt beim Erhitzen mit essigsaurem Phenylhydrazin nach dem Abkühlen typisches Lactosazon.

C. 200 ccm Extrakt mit 8 g Rohrzucker und 1 ccm Toluol autolysiert.

a) Nach Verdünnen mit dem gleichen Volumen Wasser und Erhitzen mit essigsaurem Eisen.

20. IX. α + 1° 1′.

21. IX. α + 14′, starke Reduktion, nach wenigen Minuten Abscheidung von Glucosazon.

23. IX. α + 28′, ebenso.

24. IX. α + 41, Glucosazon und lösliche Osazone, anscheinend nicht mehr als bei B.

25. IX. α + 42′, Glucosazon und sehr viele gelbe, kuglige Massen.

b) Mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, erhitzt, filtriert.

23. IX. $\alpha + 31' = 1\,\%$ Traubenzucker. 1 : 4 verdünnt 10 Fehling 9,5 = ca. $2\,\%$ Traubenzucker.

24. IX. $\alpha + 1^0\,37' = 3\,\%$ Traubenzucker. 1 : 4 verdünnt 10 Fehling 10,0 = $2\,\%$ Traubenzucker. Gärung $5\,\%$ Traubenzucker.

25. IX. $\alpha + 1^0\,41' = 3{,}2\,\%$ Traubenzucker. 1 : 4 verdünnt 10 Fehling 9,8 = $2\,\%$ Traubenzucker. Gärung $4{,}6\,\%$ Traubenzucker.

Ergebnis. Bei der Autolyse des Milchdrüsenextraktes bilden sich erhebliche Mengen von Traubenzucker neben gewissen Mengen von Milchzucker, der krystallinisch gewonnen werden konnte. — Die Spaltung von Eiweißstoffen war gering.

Ob Rohrzucker gespalten wurde, läßt sich nicht entscheiden, da das Reduktionsvermögen in dem mit Rohrzucker versetzten Extrakt nicht größer war als in der Kontrollprobe. Die vorübergehende Abnahme der Rechtsdrehung würde für Inversion sprechen, wenn sich nicht auch bei der Autolyse des Extraktes selber d-Fructose bilden könnte.

Milchdrüse 45 von frischmilchender Kuh, am 21. XI. 18 geschlachtet.

22. XI. Chloroformwasser-$0{,}5\,\%$ $NaHCO_3$-Extrakt, mit verdünnter Salzsäure für rotes Lackmoidpapier annähernd neutralisiert, auf 40^0 erwärmt, filtriert.

A. Chloroformwasser-$NaHCO_3$-Extrakt unter Zusatz von Toluol autolysiert.

22. XI. $\alpha - 16'$.

23. XI. $\alpha + 38'$, nur Glucosazon.

25. XI. $\alpha + 36'$, fast nur Glucosazon, in heißem Wasser wenig löslich.

26. XI. $\alpha + 22'$.

27. XI. $\alpha + 19'$, Glucosazon, in heißem Wasser kleiner Teil löslich. 10 Fehling 4,8. Gärung $0{,}96\,\%$ Traubenzucker.

29. XI. $\alpha + 23'$. 1 : 1 verdünnte 10 Fehling 9,8.

B. Derselbe Extrakt mit $4\,\%$ Rohrzucker, Toluol und etwas $CaCO_3$.

22. XI. $\alpha + 1^0\,56'$.

23. XI. $\alpha + 2^0\,51'$, nur Glucosazon.

25. XI. $\alpha + 59'$, Glucosazon, in heißem Wasser wenig löslich.

26. XI. $\alpha - 6'$, Osazon zum kleinen Teil in heißem Wasser löslich.

28. XI. $\alpha - 6'$, 1 : 4 verdünnte 10 Fehling 4,2 = $4{,}7\,\%$ Traubenzucker. Gärung $6{,}8\,\%$.

29. XI. $\alpha - 6'$, 1 : 8 verdünnt, 10 Fehling 8,8.

Ergebnis. Im Extrakt der Milchdrüse bildet sich d-Glucose, aus der sich kleine Mengen von Lävulose und Milchzucker zu bilden scheinen. Rohrzucker wird invertiert.

Milchdrüse 44 von frischmilchender Kuh, am 7. XI. 18 geschlachtet.

8. XI. Mit Chloroformwasser und $0{,}5\,\%$ $NaHCO_3$ extrahiert, Extrakt mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, auf 40^0 erwärmt, filtriert.

A. Säurefiltrat mit Toluol autolysiert.

8. XI. nicht erhitzt $\alpha - 28'$.

Trockenrückstand vor dem Erhitzen 2,74%, nach dem Erhitzen im Filtrat 2,32%.

11. XI. klar, annähernd neutral, ohne Zusatz von Salzsäure erhitzt, geringer flockiger Niederschlag abfiltriert.

α unverdünnt + 1° 2′, 1 : 4 verdünnt, 10 Fehling 9,8. Gärung 1,9%.

12. XI. α + 1° 11′, 1 : 4 verdünnt, 10 Fehling 10,0. Formoltitrierung 4,4 bis 4,6.

19. XI. α + 1° 14′, 1 : 4 verdünnt, 10 Fehling 8,0 = 2,3% Traubenzucker. Formoltitrierung 4,2 bis 4,6. Glucosazon stark bewachsen, lösliche Osazone.

B. Dasselbe mit 4% Rohrzucker und Toluol.

8. XI. α + 1° 58′.

11. XI. α — 37°, vollkommen klar, für rotes Lackmoidpapier ganz schwach alkalisch, ohne Säurezusatz erhitzt, filtriert.

1 : 4 verdünnt, 10 Fehling 4,4. Gärung 7,6%.

12. XI. α — 1° 12′, 1 : 8 verdünnt, 10 Fehling 8,2, nur Glucosazon. Formoltitrierung 3,2 bis 3,4, steht bei Zimmertemperatur.

18. XI. ohne Säurezusatz erhitzt, filtriert.

α + 1° 2′, 1 : 8 10 Fehling 5,7 Gärung 6,5%. Formoltitrierung 2,6 bis 2,8. 1 : 4 verdünnt, Glucose und sehr viel kleine kuglige Massen.

Ergebnis. Im Extrakt der Milchdrüse bildet sich d-Glucose. Rohrzucker wird invertiert und anscheinend in Milchzucker übergeführt.

Milchdrüse 27 von frischmilchender Kuh.

27. III. 18. 2 Stunden nach dem Schlachten 200 g der zermahlenen Drüse mit 400 Wasser erhitzt. 400 ccm des Extraktes mit 7 ccm ½ normaler Salzsäure im kochenden Wasserbade koaguliert, filtriert.

Reduziert sofort stark, Osazon vollkommen löslich. α ± 0,0.

Dasselbe nach Erhitzen mit essigsaurem Eisen: α + 15′.

Dasselbe nach 2stündigem Erhitzen mit 2% Schwefelsäure, neutralisiert mit $CaCO_3$: α + 18′ — Osazon: Gemisch von Glucosazon und Galaktosazon.

100 ccm mit 12 ccm konzentrierter Salpetersäure auf kleines Volumen 0,1099 g Schleimsäure.

I. Die zerkleinerte Drüse wird auf 1 g mit 2 ccm 1,5%iger Fluornatriumlösung angerührt und auf 1 Stunde in den Wärmeschrank gestellt.

A. Autolyse des Fluornatriumextrakts nach Zusatz von Thymol.

Proben mit gleichem Volumen Wasser verdünnt und mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid erhitzt.

27. III. 18. α + 6′.

28. III. α ± 0,0, Osazon löslich.

30. III. α + 2′, kein Osazon.

1. IV. Eiweiß ausgefallen, blaues Lackmus schwach gerötet. α ± 0,0, nur lösliches Osazon.

3. IV. α + 42′, nur lösliches Osazon, reichlich.

B. Autolyse unter Zusatz von 4% Rohrzucker und Thymol.

27. III. 18. $\alpha + 1^{0}\ 3'$.

28. III. $\alpha + 1^{0}\ 2'$, Glucosazon bewachsen und Kugeln.

30. III. $\alpha + 1^{0}\ 2'$. Glucosazon stark bewachsen.

1. IV. Eiweiß ausgefallen, blaues Lackmus schwach gerötet.

$\alpha + 51'$, Glucosazon, reichlich stark bewachsen in gelben Massen.

3. IV. $\alpha + 1^{0}\ 28'$, kein Glucosazon, nur sehr reichlich gelbe, amorphe Massen, größtenteils in heißem Wasser löslich.

II. Der Fluornatriumextrakt wird mit $^{1}/_{2}$ normaler Salzsäure neutralisiert, auf 40° erwärmt, vom ausfallenden Eiweiß abfiltriert. Das Filtrat wird unter Zusatz von $CaCO_3$ in die Wärme gestellt.

A. Autolyse unter Zusatz von Thymol.

28. III. 18. $\alpha + 15'$, Osazon gering, kleine Kugeln aus feinen Nadeln.

30. III. $\alpha - 6'$, ebenso.

1. IV. $\alpha + 4'$, ebenso.

3. IV. $\alpha + 1^{0}\ 11'$, Osazon in heißem Wasser löslich, beim Erkalten Kugeln aus gelben Plättchen.

25 ccm liefern bei der Oxydation mit Salpetersäure 0,4280 g Schleimsäure.

B. Autolyse unter Zusatz von 4% Rohrzucker und Thymol.

28. III. $\alpha + 1^{0}\ 2'$, Glucosazon stark bewachsen.

30. III. $\alpha + 58'$, Glucosazon sehr viel reichlicher als im vorhergehenden B-Versuche.

1. IV. $\alpha + 1^{0}\ 11'$, wenig typisches Glucosazon, Osazon in heißem Wasser vollkommen löslich.

3. IV. $\alpha + 1^{0}\ 32'$.

5. IV. 30 ccm mit HNO_3 0,0990 g Schleimsäure.

6. IV. $\alpha + 1^{0}\ 28'$.

25 ccm mit HNO_3 0,1157 g Schleimsäure.

Ergebnis. Im Drüsenextrakt sind von vornherein etwas größere Mengen Milchzucker als sonst meistens enthalten. Bei der Autolyse bilden sich weitere erhebliche Mengen von Milchzucker. Die im Extrakt vermutlich gebildete d-Glucose wird also durch die milchzuckerbildenden Fermente gleich weiter umgewandelt. Diese Wirkung zeigt auch der Extrakt, nachdem durch Neutralisation und Erwärmen ein bestimmter Anteil der Eiweißkörper entfernt worden ist. Eine Spaltung des Rohrzuckers ist nicht nachweisbar. Rohrzucker beeinträchtigt die Milchzuckerbildung.

Das gleiche Resultat wurde erhalten bei der Untersuchung des Extraktes, der vor Zusatz des Rohrzuckers bzw. Neutralisation und Erwärmen 1 Tag im Wärmeschrank gestanden hatte.

Milchdrüse 30 von frischmilchender, junger Kuh.

Heißwasserextrakt.

16. IV. 18. $\alpha + 6'$, nach Verdünnen mit gleichem Volumen Wasser und Erhitzen mit essigsaurem Eisen, reduziert stark, geringer Niederschlag von Lactosazon-Galaktosazon.

$\alpha + 6'$, nach 3stündigem Erhitzen mit 2 % Schwefelsäure. Sehr reichlich Glucosazon, bewachsen.

17. IV. A. Chloroformwasser-0,5 % $NaHCO_3$-Extrakt, unter Zusatz von Thymol in die Wärme.

17. IV. $\alpha + 6'$, reduziert stark, kein Osazon.

18. IV. $\alpha - 18'$, reduziert stark, starker Niederschlag von Glucosazon, schwach bewachsen, nicht unerheblicher Teil in heißem Wasser löslich.

19. IV. $\alpha - 21'$, starker Niederschlag von Glucosazon und viele kleine Kugeln.

20. IV. $\alpha - 24'$, ebenso, aus heißem Wasser kleine Sterne aus schmalen, gelben Prismen.

22. IV. $\alpha - 24'$, ebenso.

B. 200 ccm desselben Extrakts mit 8 g Rohrzucker und 1 ccm 10 % ige Thymollösung.

17. IV. 18. $\alpha + 1^\circ 2'$, geringe Menge Glucosazon.

18. IV. $\alpha + 51'$, Glucosazon (weniger als bei A.?).

20. IV. $\alpha - 35'$, Glucosazon (sehr viel mehr als bei A.) und viel gelbe krystallinische, in heißem Wasser lösliche Kugeln.

22. IV. $\alpha + 28'$, Glucosazon und sehr viele Kugeln aus gelben Nadeln.

23. IV. $\alpha + 47'$.

24. IV. $\alpha + 54'$.

Derselbe Extrakt mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, auf 42° erwärmt und filtriert.

C. Filtrat unter Zusatz von Thymol.

17. IV. $\alpha - 6$ bis $7'$, kein Osazon.

18. IV. $\alpha - 12'$, nur typisches Glucosazon.

20. IV. $\alpha - 21'$, Glucosazon und sehr viel kleine Kugeln.

22. IV. $\alpha - 21'$.

25. IV. $\alpha - 8'$, Glucosazon stark bewachsen.

D. Filtrat mit 4 % Rohrzucker und Thymol.

17. IV. $\alpha + 57'$, geringe Menge Glucosazon.

18. IV. $\alpha + 49'$, Glucosazon, schwach bewachsen, in heißem Wasser wenig löslich.

19. IV. $\alpha + 33'$, reichlich Glucosazon und wenig körnige Massen.

20. IV. $\alpha + 42'$, reichlich Glucosazon und viel gelbe Massen. Menge der löslichen Osazone etwa dieselbe wie bei A, B, C, und von gleichem Aussehen.

22. IV. $\alpha + 36'$, bei B und D erheblich mehr löslich. Osazone wie bei A und C.

23. IV. $\alpha + 37'$.

25. IV. $\alpha + 37'$, Menge der Osazone im ganzen und der lösliche Anteil im besonderen sehr viel größer als bei C.

1. V. 18. Rest von A und C vereinigt.

170 ccm mit 40,8 ccm $^1/_2$ normal. HCl neutralisiert, erhitzt, Filtrat mit Bleiacetat gefällt, filtriert, H_2S, filtriert, eingeengt.

Vol. 150 ccm, α — 26′, nach Hydrolyse mit 2 % H_2SO_4 — 8′, nur Glucosazon; auf kleines Volumen eingeengt, mit mehr als dem doppelten Volumen Alkohol keine Fällung, Alkohol verdunstet, von Chloriden abfiltriert, Filtrat mit Kohle behandelt, verdünnt, α im 2 dcm-Rohr — 25′. 10 Fehling 7,0, nur Glucosazon.

Rest von B und D vereinigt.

270 ccm wie oben behandelt. Sirup mit Alkohol versetzt. Beim Stehen pulveriger Niederschlag, der abgesaugt und mit verdünntem Alkohol gewaschen wird.

Ausbeute 2 g Milchzucker.

0,5 : 50 α + 45′, typisches Lactosazon, rein,
mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt 10 Fehling 12

0,5209 g lufttrockner Substanz liefern 0,1793 g Schleimsäure = 34,4 %.

In der Mutterlauge noch weitere geringe Mengen Lactose bzw. Galaktose.

Ergebnis. Bei der Autolyse des Milchdrüsenextraktes bildet sich Lävulose, auch nachdem durch gelindes Erwärmen und vorsichtiges Neutralisieren ein Teil der Eiweißkörper ausgefällt worden ist. Es bildet sich Milchzucker. Rohrzucker wird invertiert. Die Bildung von Milchzucker in dem mit Rohrzucker versetzten Extrakt scheint stärker zu sein als ohne Rohrzuckerzusatz

Milchdrüse 6, von hochträchtiger Kuh, am Tage nach dem Schlachten mit 0,5 % FNa extrahiert.

26. X. 17. 60 ccm mit 6,5 g Rohrzucker.

27. X. von ausgeschiedenem Eiweiß abfiltriert.

α — 12′, nur Glucosazon.

29. X. α ± 0,0, Brei von Glucosazon und viel gelbe amorphe Massen, in heißem Wasser löslich, beim Erkalten Kugeln aus Nadeln.

30. X. α + 56′, Glucosazon und in heißem Wasser lösliche Osazone.

31. X. α + 58′.

1. X. Auf der Oberfläche Bakterienentwicklung (?), ziemlich stark sauer auf Wasserbad eingeengt, unter Zusatz von Alkohol zum dünnen Sirup.

Krystallbrei abgesaugt, mit verdünntem Alkohol (1 Wasser, 2 Alkohol) gewaschen, 2,8 g lufttrocken. Aus Wasser umkrystallisiert nicht klar, sondern etwas weißlich.

0,4187 in 14,5 ccm α + 1° 31′ [α] D + 53.

0,6020 bei 110 bis 112° getrocknet, mit 6 ccm HNO_3 oxydiert usw.

0,1910 g = 31,7 % Schleimsäure.

Osazone: Sterne aus schmalen, zum Teil lanzettlichen Plättchen, also Lactose mit geringen Mengen Galaktose.

Filtrat mit Alkohol eingeengt wie oben 2 g, bei der Oxydation, 28,1 % Schleimsäure, Osazon löslich, nur Kugeln aus feinen Nadeln.

Mutterlauge sirupös, 2,6 g mit 25 ccm konz. HNO_3 kleine Mengen Schleimsäure. Probe in Wasser gelöst α — 28′. 10 Fehling reduziert von 3,7 ccm.

Ergebnis: Rohrzucker wird durch die Enzyme, die im Extrakt einer hochträchtigen Kuh enthalten sind, invertiert und in Milchzucker übergeführt.

Milchdrüse 1 von trächtiger Kuh.

11. IX. 17. 50 g werden zerkleinert und mit 100 ccm 0,5 %iger FNa-Lösung bei Zimmertemperatur extrahiert. Der Extrakt wird durch ein Porzellansieb abgegossen und mit 2 % Rohrzucker versetzt. Proben werden mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und durch Erhitzen mit essigsaurem Natrium und Eisenchlorid enteiweißt.

$\alpha + 32'$ reduziert nicht.

12. IX. $\alpha - 44'$, starke Reduktion, nur Glucosazon.

13. IX. $\alpha - 1^{\circ}$, Glucosazon und viele kleine Kugeln.

15. IX. Ebenso.

Dieselbe Drüse, nachdem sie einen Tag gelegen, ebenso extrahiert. Extrakt mit 4 % Rohrzucker.

12. IX. $\alpha + 58'$, keine Reduktion.

13. IX. $\alpha + 1^{\circ} 22'$, reduziert, Osazon nur Kugeln aus Nadeln und vereinzelte gelbe Plättchen, kein Glucosazon.

15. IX. $\alpha + 2^{\circ} 27'$, reduziert stark, nur Kugeln und gelbe Plättchen, kein Glucosazon.

17. IX. $\alpha + 2^{\circ} 29'$, Osazon große Kerne aus gelben Plättchen.

Ergebnis. Aus derselben Drüse können Extrakte von verschiedener Wirkung erhalten werden. Der Extrakt der frischen Drüse invertiert den Rohrzucker bei Zusatz von 2 % Rohrzucker. Nach 1 tägigem Liegen und Zusatz von 4 % Rohrzucker wurde der Rohrzucker anscheinend nicht invertiert, aber die im Extrakt gebildete d-Glucose in Lactose bzw. Galaktose übergeführt.

Über die Veränderung der Stickstofformen in keimender Lupine, insbesondere über das Verhältnis von formoltitrierbarem und Formalinstickstoff zum Gesamtstickstoff.

Von

H. Sertz, Helmstedt (Braunschw.).

(Eingegangen am 11. Dezember 1918.)

Mit der Methode von Sörensen[1]) läßt sich schnell feststellen, wieviel Stickstoffgruppen mit Formaldehyd reagieren, indem durch Einwirkung des letzteren der basische Charakter dieser Gruppen aufgehoben wird, so daß diese Gruppen nicht mehr entsprechende Carboxylgruppen neutralisieren können und diese also alkalimetrisch titrierbar werden. Handelt es sich um basische, nicht um rein amphotere Stoffe, bei denen weniger COOH-Gruppen als NH_2-Gruppen vorhanden sind, so wird vor dem Zusatz von Formol mit einer Säure neutralisiert, so daß bei der Formoltitrierung dann diese Säure titriert wird, deren Menge natürlich äquivalent der vorher neutralisierten basischen Gruppe ist. Man berechnet das Prozentverhältnis des durch Formol titrierbaren Stickstoffs zu dem durch die Kjeldahl-Bestimmung gefundenen Stickstoff.

Es reagieren bei dieser Methode die NH_2-Gruppen mit Ausnahme der Säureamidgruppen, so auch der Guanidin-NH_2-Gruppen. Auch die NH-Gruppe des Sarkosins reagiert quantitativ[2]). Nach Sörensen[3]) ist die Einwirkung von Formol auf

[1]) Sörensen, Enzymstudien. Diese Zeitschr. 7, 45.

[2]) Clementi, Über die Möglichkeit, die monosubstituierte Aminogruppe der Aminosäure mit Formol zu titrieren. Chem. Centralbl. **1915**, I, 1089.

[3]) Siegfried und Reppin, Über die Einwirkung von Basen auf Eiweißkörper und Aminosäuren. Zeitschr. f. phys. Chem. **95**, 19.

Aminogruppen ein reversibler Vorgang. Der Zusatz neutralisierter Formollösung zur Lösung einer Aminosäure bewirkt Trennung der Amin- von der Säurefunktion, indem die Aminogruppe wegen Einflusses des Formols eine Methylenverbindung bildet, wodurch es möglich wird, die Menge der COOH-Gruppen titrimetrisch zu bestimmen.

Durch Zusatz von entsäuerter wäßriger Formaldehydlösung werden Pflanzenalbumin, Albuminate und Hemialbumosen so gut wie unlöslich = Formalin-Stickstoff, Peptone, Diastase usw. bleiben löslich[1]).

In ungekeimtem Zustand der Lupine betrug der formoltitrierbare Stickstoff = 12,7, der Formalinstickstoff 86,3, nach 3 Tagen 18,3 bzw. 82,3, nach 5 Tagen 24,9 bzw. 70,5, nach 7 Tagen 31,05 bzw. 65,5 und nach 10 Tagen endlich 39,4 bzw. 57,6% des Gesamtstickstoffs.

Es ergab sich also eine erhebliche Zunahme des formoltitrierbaren Stickstoffs (löslichen Aminosäuren-) und Abnahme des Formalin-(unlöslichen Eiweiß-)stickstoffs. Die Summe beider entsprach annähernd etwa dem Gesamtstickstoff. Ein bestimmtes Verhältnis bzw. näherer Zusammenhang zwischen beiden Stickstofformen konnte nicht festgestellt werden.

---

[1]) Forschungsberichte über Lebensmittel, 1894, Heft 11.

Berichtigung

zu der Arbeit von C. Neuberg und E. Kerb „Phytochemische Reduktionen XVI", diese Zeitschr. 92, 1918.

Auf Seite 120 muß Zeile 9 von oben wie folgt heißen:

„. . . von dessen 4 möglichen, von den entsprechenden Cyklocitralen: sich ableitenden Formen"

statt:

„. . . von dessen 4 möglichen Formen".

Infolge der Zeitverhältnisse verspätet, ist hier erst jetzt die Nachricht eingetroffen, daß am 11. Dezember 1918 Professor

Ivar Bang

zu Lund in Schweden plötzlich verstorben ist. Der Dahingeschiedene, der Norweger von Geburt gewesen ist, hatte ursprünglich ärztliche Tätigkeit ausgeübt, wandte sich jedoch später der theoretischen Forschung zu. In den Jahren 1897 bis 1899 ist er Schüler Hammarstens gewesen. Seine ausgezeichneten Arbeiten schufen ihm bald einen internationalen Ruf, den er seit seiner Ernennung zum Professor der medizinischen Chemie in Lund im Jahre 1904 dauernd erhöht hat. Obgleich Bangs Arbeiten viele Zweige der Biochemie bereicherten, sind es hauptsächlich drei Gebiete gewesen, die ihn besonders gefesselt und zu hervorragenden Leistungen geführt haben. Es ist dies zunächst die Chemie der Nucleinsäuren und der Histone gewesen; seinen Untersuchungen ist die Erkenntnis der relativ einfachen Zusammensetzung der ersteren zu danken. Die zweite Gruppe betrifft seine Arbeiten auf dem Gebiete der Immunochemie; er gelangte hier, zum Teil in Zusammenarbeit mit seinen Lunder Kollegen Forssman und Overton, zu grundlegenden neuen Anschauungen. Die größte Anerkennung erntete auch die dritte umfangreiche Reihe seiner Untersuchungen, seine analytischen Arbeiten. Er ersetzte die früher unzulänglichen Methoden der Zuckerbestimmung durch neue, welche die Bedürfnisse der physiologisch- und pathologisch-chemischen Praxis befriedigten. Er schuf neue Verfahren der Stickstoff-, Fett- und Lipoidbestimmung und bildete dieselben zu äußerst wert-

vollen Mikromethoden aus. Das umfangreiche Anwendungsgebiet dieser Verfahren auf Fragen des normalen und pathologischen Stoffwechsels hatte er schon selbst mit seinen zahlreichen Schülern mit größtem Erfolge in Angriff genommen, als den Neunundvierzigjährigen mitten in der Laboratoriumsarbeit bei der Besprechung und Vorbereitung neuer Versuche unerwartet der Tod abberief.

Die literarischen Schöpfungen Bangs sind Standardwerke unserer Wissenschaft geworden. 1911 erschien seine „Chemie und Biochemie der Lipoide", 1913 „Der Blutzucker", 1916 seine „Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile", und kurz vor seinem Hinscheiden ein „Lehrbuch der Harnanalyse".

Ivar Bang ist ein Erneuerer der klinischen Chemie gewesen. Als solcher wird er fortwirken, und die Erinnerung an sein selbstloser Forschungs- und Lehrtätigkeit gewidmetes Schaffen, an seine erfolgreichen Errungenschaften und an seine liebenswerte Persönlichkeit wird lange unvergessen bleiben.

C. N.

Über das Vorkommen und die Verteilung von Fetten und Lipoiden im menschlichen Blute bei toxämischen (hämatinämischen) Krankheitszuständen.

(Beobachtungen bei perniziöser Anämie und hämolytischem Ikterus.) Chemische Beiträge zur Kenntnis des Lipämiegebietes VI[1]).

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 19. November 1918.)

In einer vorhergehenden Mitteilung hat Verf. Stellung genommen zu der Frage, welchen Abartungen die Erscheinungen des lipämischen Komplexes nach Größe, Gliederung und äußeren Verhältnissen unterworfen sind, wenn Cholämie vorliegt.

Die einschlägige Literatur war, wie dort einleitend beschrieben, recht eng bemessen. Rodier und Becquerel hatten früher einmal auf das Vorkommen hohen Fettgehaltes hingewiesen, ohne (wie Beumer und Bürger in ihrer gleich zu erörternden Spezialuntersuchung berichteten) „daß dies später der gebührenden Beachtung sich erfreut habe". Die Zahlen der letztgenannten Autoren — es handelt sich um drei durchuntersuchte Fälle (nach den damaligen Verhältnissen), sowie um vier weitere, die summarisch nach den Gesamtextrakten aufgeführt wurden — sind das gesamte Material geblieben, bis die erwähnte Untersuchung des Verf. nach neuen methodischen und grundsätzlichen Gesichtspunkten die Kenntnisse an Hand zahlreicher Fälle beträchtlich erweiterte (s. dort).

Abgesehen von Bemühungen über die Wiedergabe der Erscheinungen des lipämischen Gesamtkomplexes hat die spezialistische Literatur der Fragen des Blutcholesterins sich häufiger mit diesem Sonderabschnitt des Gesamtgebietes befaßt. Doch

---

[1]) Die vorstehende Untersuchung setzt die in früheren Reihen (I, V) bereits begonnene fort und betritt hier ein Spezialgebiet.

sind auch hier, wie es ja aus allen Voraussetzungen zur Genüge ersichtlich sein wird, verschiedenartige Urteile aus Sonderergebnissen formuliert worden. Auf die speziellen Aufgaben, die die Cholesterinämie stellt, soll an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden, da diese Frage den Verf. (mit Neumann) in besonderen Berichten beschäftigen wird. Die Haupttatsache mag in die Form gefaßt werden, daß von vielen Seiten gesteigerte Cholesterinbestände des Plasmas betont worden sind. In diesem Sinne spricht auch das umfangreiche Material des Verf. Zweifeln und bisher systematischer Fassung nicht oder doch nur mangelhaft zugänglich ist die Seitenfrage nach der Struktur des Gesamtcholesterins in Hinsicht auf den Esteranteil. In dieser Hinsicht hat die Zusammenstellung der Fälle des Verf. die Möglichkeit eröffnet, für einen größeren Ausschnitt dieser Erkrankungen und mindestens für typisch verlaufende Vorkommnisse (die durch Prüfung an den gegebenen Zeitpunkten unter Umständen richtig erfaßt werden können) einigen Durchblick in die Wandlungen zu gewinnen.

Außerhalb der genannten Mitteilungen stehen die Analysen von Medak, die der von King eingeleiteten Theorie mit gewisser Ergänzung unterstellt wurden. Bloors pathochemische Analysen kommen für diese Frage einstweilen trotz ihres neuorientierenden Wertes kaum in Betracht.

Die bisher zutage geförderten Haupttatsachen lassen sich, soweit die beschreibende Pathochemie in Betracht kommt, in folgende Sätze fassen. Bei cholämischen Zuständen (wenn diese nach den neuen Lehren dem chemisch durch das Bilirubin als solchen erweislichen Stauungsikterus entsprechen (s. u.), kommen ziemlich verbreitet wichtige, häufig genug anderweitig nicht ausreichend erklärbare Lipämien vor. An diesen ist in erster Reihe das Neutralfett, in zweiter die Cholesterinfraktion, in dritter (Feigl) das Lecithin beteiligt. Beumer und Bürger deuten ihre Zahlen (s. u.) auch auf die Möglichkeit höherer Lecithinämie hin, die Verf. immerhin als (relativ) unbedeutend charakterisierte. Diese (chemisch definierbaren) Lipämien können ganz achtbare Grade erreichen, wie in der genannten Arbeit des Verfs. belegt wurde und anschließend noch an Grenzzahlen zu schildern ist. Wichtig und selbst charakteristisch ist die in den Materialien von Feigl durchgehend sich wiederholende Tatsache, daß cholämische Lipämien fast ausnahmslos, wo nicht

geradezu gesetzmäßig, maskiert sind. Diese Verhältnisse erstrecken sich von geringen zu selbst beträchtlichen Anstiegen des Fett- und Lipoidbestandes. Ihre Begründung wird durch Experimente gestützte Auffassungen auf das kolloidchemische Gefüge der Gallenstoffe untereinander mit vorwiegender Betonung der Cholate verlegt, wie im einzelnen in der genannten Mitteilung besprochen wurde. Man hat also eine bestimmte Form des allgemeinen Begriffes der Fettmaskierung vor sich, von der ohne Zweifel auch anders geartete, tatsächlich einwandfrei zu konstatierende, Möglichkeiten vorkommen. Der Untersuchungen von v. Liebermann, von Mansfeld und von weiteren Forschern wäre zu gedenken; ihnen schreibt die Auffassung sekundäre Bindungen zwischen gewissen Gliedern der Fett- und Lipoidfraktion einerseits und Typen der Proteine andererseits vor.

Wie dem auch sei, die unsichtbare, nur durch chemische Untersuchung und entsprechende Beurteilung zu erfassende cholämische Lipämie gewinnt für sich charakteristische, wo nicht typische Bedeutung. Versucht man ihren tatsächlichen Beziehungen nachzugehen, so würde in erster Reihe die Ermittlung der Gallenstoffe stehen. Das wirklich zureichend bestimmbare Bilirubin steht bisher im Vordergrunde und wird als Indicator für die Stärke der Cholämie (als Gesamterscheinung) betrachtet. Das kann nur teilweise eine richtige Vorstellung sein, da die Beziehungen des Farbstoffes zu den Cholaten (die, wie gesagt, als chemisches bzw. kolloidchemisches Agens für die Maskierung voranstehen), in der Pathologie gewissen Schwankungen von achtbarer Breite unterliegen. Wie weit demnach und trotz des benannten Mangels die Bestimmung des Bilirubins trägt, ist bisher nicht ausgemacht. Jedenfalls hat sich einstweilen in den Fällen mit mittlerem Ikterus (und auch noch darunter) nichts beobachten lassen, was für feste Relationen zwischen Fettgehalt, Grad der Maskierung und Intensität der Bilirubinämie spräche. Dabei darf einschränkend bemerkt werden, daß über solche Beziehungen keine Anhaltspunkte überhaupt belehren, daß also der (zu maskierende) Fettgehalt in den meisten Fällen gemeinhin geringer bleibt, als der Grenze (gegenüber dem verfügbaren Cholatgemisch) entsprechen würde. Darin weiter zu kommen, darf als lohnende Aufgabe gelten.

Nun haben die von Hymans van den Bergh durchgeführten Untersuchungen, die von Feigl und Querner auf ein großes Material ausgedehnt wurden, ergeben, daß man nach dem chemischen Verhalten im Verlauf der Diazoreaktion zwei Typen von Bilirubin (wie Serum) zu unterscheiden vermag. Die Grenzlinie ist, was wenigstens von den typischen Vorkommnissen als begründet zu gelten hat, eine scharfe.

Hymans van den Bergh und Muller haben nach den anfänglichen Versuchen mit der Diazoreaktion diese ohne isolierende Eingriffe, die sich als entspezifizierend charakterisieren lassen, die Frage näher bearbeitet und für das Stauungsbilirubin den sofortigen Eintritt der maximalen Farbintensität des Kupplungsproduktes festgestellt. Bei „anhepatischem" Bilirubin treten entweder gar keine, oder eine schwache, oder eine solche Reaktion ein, die sich durch langsame Entwickung scharf von der erstgenannten abgrenzen läßt. Feigl und Querner haben nun ausgesprochen, daß ihnen die erstgenannten Versionen der „verzögerten Diazoreaktion" nie zu Gesicht gekommen seien. Sie haben beobachtet, daß im abklingenden Stadium schwerer Fälle von Stauungsikterus die anfangs typisch „prompte" Probe sich zur „verzögerten" modeln könne und daß es ein nicht zu knappes Material gäbe, das bei guter Beobachtung gegen beide Extreme abgegrenzt, nur als „zweiphasig" (mit jeweils inkonstanten Einzelfunktionen) zu bezeichnen sei. Wie dem auch sei, es handelt sich hier um besondere Verhältnisse, die den Übergangsbereich nach Kombinationen darbieten.

Die Ergebnisse, die nach der Entdeckung des holländischen Forschers selbst, in pathogenetischer Hinsicht feste Gestalt gewonnen haben und sich in zahllosen Fällen als prinzipiell zu Recht bestehend und diagnostisch als wertvoll erwiesen haben, strahlen weit auf das Gebiet des Ikterus aus. In diesem hatte die unitaristische Lehre ständig an Boden gewonnen und die frühere grundsätzliche Scheidung zwischen hepatogenem und hämatogenem Ikterus verwischt. Die Vorstellung von Hymans van den Bergh, die auf dem Untergrunde augenfälliger, wennschon experimentell nicht aufgelöster und daher summarischer Reaktionserscheinungen steht, wirft ein eigentümliches Licht auf den Stand der Theorie ikterischer Erkrankungen, dessen Tragweite nicht zu bemessen ist. Jedenfalls ist das Bilirubin durch seine chemische- oder kolloidchemische Gruppierung verschieden angeordnet, je nachdem es die beiden Formen des Reaktionsablaufs zeigt. Sein Kern, der Farbstoff, muß, wie die spezifischen Einflüsse sekundärer Spaltungen zeigen, derselbe sein, in einem Falle frei, im andern bis zum gewissen Grade maskiert.

Legt man nun die Prüfung nach dieser Diazoreaktion unter Wahrung ihrer Technik zugrunde, so gewinnt man für die eingangs entwickelte Frage der cholämischen Lipämie interessante Ausgangspunkte. Die zweite Reihe, innerhalb der nun die Bilirubinämien mit dem Charakter „verzögerter" Diazoreaktion liegen, sind in gleicher Weise zu prüfen. Wie weit in solchen der Komplex von Faktoren, die die cholämische Lipämie mit ihrer grundsätzlichen Maskierung zuwege bringen, modifiziert, durch Fehlbeträge gestört, durch inneren Ausgleich in dem betreffenden Sinne entwertet, kurz qualitativ oder quantitativ ein anderer ist, das ist heute keineswegs abzuschätzen. Es fehlen vor allen Dingen Anhaltspunkte für Menge und Art der Cholatfraktionen. Nicht uninteressant wäre noch die Frage, wie weit hier in typischen Vorkommnissen (und damit in den erwähnten Übergangs- und Kombinationsformen) der Bilirubingehalt (s. o.) ein Indicator für die besondere Pathologie des Serums sei.

Ausgangspunkte, um von ihnen her zur Frage der Pathochemie des lipämischen Komplexes Stellung zu nehmen, gibt es genügende. Wir knüpfen an die Erscheinungsformen an. Wenn wir auch in der vorliegenden Arbeit das Typische der Verhältnisse zu schildern hauptsächlich bestrebt sind, so führt uns dies Problem doch in die Erörterung der speziellen Pathochemie des Serums und Blutes unsrer Fälle. Wir werden in der vorliegenden (VI.) Mitteilung über lipämische Umstimmungen die Fragen behandeln und nach dem einschlägigen Urteile diskutieren, die aus der Verkettung von Befunden über Größe und Qualität des lipämischen Komplexes mit der verzögerten Diazoreaktion hervorgehen. Unser Hauptaugenmerk richten wir auf die perniziöse Anämie, auf den hämolytischen Ikterus und nahestehende Formen; in gewissen Anschluß rückende toxikologische Vorkommnisse haben wir zunächst, weil bei ihnen häufig eine direkte Leberschädigung (deren Folge ein „Stauungsikterus" mit besonderem chemischen Bau des Serums sein darf) möglich ist, fortgelassen. Die Aufgabe ist nach dem bisher befolgten Untersuchungsgange in methodischer Hinsicht fixiert.

Fangen wir mit Besprechung der chemischen Erscheinungen bei Serum an, so ist auch nach Entnahmen im nüchternen

Zustande (bei konstanter Ernährungsform) ein relativ breites Vorkommen mehr oder minder augenfälliger Trübung nicht zu übersehen. Solche Seren bei perniziöser Anämie findet man auch da, wo von sehr reicher, selbst von mäßiger Fettzufuhr keine Rede ist. Weniger häufig haben wir die Erscheinung bei hämolytischem Ikterus gesehen. Man kann nach Bisherigem nicht mehr umhin, in erheblicher Breite Unterschiede anzuerkennen; solche erstrecken sich selbst auf Seren, in denen graduell keine Unterschiede zwischen den jeweils maximalen Farbintensitäten der Diazoreaktion mehr zu konstatieren sind. Das typische Bild für den Stauungsikterus — akute entzündliche, desgl. chronische Gallenerkrankungen, Steine, der „katarrhalische“ Ikterus — sind die selbst bei hohem und (für diese Vorkommnisse) höchstem „Fettgehalt“ und desgl. Bilirubingehalt, klaren, blanken Seren, wofern sie sachgemäß gewonnen wurden. Das ist hier häufig anders. Versucht man sich kombinatorisch an der Deutung der Verhältnisse, so kann einmal der „cholämische“, ein andermal der „lipämische“ Komplex zur Prüfung erwogen, ferner der sonstige chemische Bau der Seren in Betracht gezogen werden. Der erstere würde ein gestörtes „Zusammenwirken“ der Gallenstoffe, ein absolutes oder relatives Absinken oder Defizit der wichtigen Cholate, eine abgeartete Mischung ins Auge fassen; der zweite sieht vor sich die Aufgabe, aus dem Aufbau und den Relationen des Fett-Lipoidgemenges Schlüsse zu gewinnen, der dritte beachtet Konzentration, Proteine, Salze, organische, celluläre Stoffe für sich und in ihren Wechselbeziehungen.

Als wichtiges Glied ist von Schumm und von Feigl die Hämatinämie erwiesen worden, die ganz erhebliche Grade erreichen kann. Sie ist ein Teil der Gesamtfraktion der Chromogene. Die Eigenfarbe der Seren ist häufig diskutiert worden. Feigl und Querner haben sich speziell mit ihr beschäftigt. Beumer und Bürger deuteten einmal eine stark „dikrote“ Färbung ohne weiteres auf pathologische Urobilinämie. Solche Fluorescenzen und Grenzerscheinungen können eine Folge geringer Trübungen sein.

Die einschlägige Literatur ist vom Standpunkte durchgreifender chemischer Blutuntersuchungen sehr beengt. Sie sind mit den Namen von Beumer und Bürger, von Medak

und im gewissen Sinne auch von King erschöpft. Die Aufgaben der speziellen Cholesterinämie haben mehrfache Bearbeitung und verschiedene Urteile erfahren; die Einzelheiten stellen wir für die besondere Betrachtung zurück, betonen aber dabei, daß gewisse Stimmen einen relativen Rückgang des Gesamtcholesterins darlegten und einen solchen in therapeutische Maßnahmen hinüberlenkten.

Beobachtungen über den lipämischen Komplex bei perniziöser Anämie.

Beginnen wir mit der Wiedergabe der Untersuchung von Beumer und Bürger, so ist zu beachten, daß sie zwei ausgezeichnet beschriebene Fälle zur Darstellung bringen.

Die Hauptdaten sind bezüglich angeordnet: Körperchen Vol. 50; 87,5; (Urin 450), Trockensubstanzen 340,1, 307,9 (Körperchen); 77,5, 70,37 (Serum); Eiweiß 322,8, 282,8 (Körperchen); 57,74, 56,24 (Serum und Gesamtextrakt 5,585, 5,297 (Körperchen); 6,834, 3,794 (Serum); Lecithin 0,999, 2,181 (Körperchen); 0,806, 0,915 (Serum); Cholesterin 0,714, 0,952 (Körperchen); 0,215, 0,221 (Serum); Cholesterinester Ø, Ø (Körperchen); 0,510, 0,290 (Serum); Fettsäuren 0,643, 0,416 (Körperchen); 0,361, 1,670 (Serum); Gesamt-P_2O_5 2,33, 2,03 (Körperchen); 0,440, 0,435 (Serum); Fe 1,004, 1,007 (Körperchen); 0,0144 (Serum, ein Fall).

Die Wertigkeit der Erythrocyten ist (hoher Trockenproteingehalt) nur wenig geschädigt oder erhöht (Gegensatz zur Chlorose). Diese wird auch aus der (kompensatorisch) hohen O_2-Kapazität gefolgert. Lecithin der Erythrocyten schwankt. Erben nennt „abnorm hohe" Zahlen von 0,4%. Hier ist einmal Senkung, einmal Anstieg vorhanden (s. o.). Pathologisch ist das Absinken aus der Entwicklung des langdauernden Falles erklärbar (Erschöpfung des Fett-Lipoidbestandes; Atrophie aller Elemente des Blutes), die sich in Gegensatz begibt zu schnell verlaufenden Fällen bei an sich zunächst vollkräftigen Organismen. Das Serum ist sehr wasserreich (wobei Fett und Lipoid sowie Eiweiß sinken). Urobilinämie wurde aus der dikroten Färbung hergeleitet (vgl. Syllabas Angaben über Bilirubin, siehe die anderen Feststellungen von Hymans van den Bergh sowie von Feigl und Querner). Der Eisengehalt ist wichtig.

Als sehr wertvoll ist neben den Detailuntersuchungen der kritische Vergleich zur experimentellen Ölsäureanämie zu bezeichnen. Flury fand vorherrschend Ester und reichliche freie Fettsäuren beim Hunde. Danach wird die Arbeitshypothese der Ölsäurewirkung bei der menschlichen Anaemia perniciosa geprüft. Das führt die Autoren auf die Frage nach dem Vorkommen von Cholesterinestern in Erythrocyten (Rochmann), die gerade hier keine Bedeutung erlangen. Auch die freien Fettsäuren sind mit 0,064 und 0,042% normal. Die experimentelle Ölsäureanämie

gibt keinen Parallelismus, das koktostabile Lipoid wird also als nicht endgültig erhärtete Ursache betrachtet.

In einer ferneren Mitteilung (1918) berichten dieselben Autoren, ausgehend von der Frage nach der Struktur des Gesamtcholesterins hinsichtlich des freien (nebenher über Lecithin prüfend) über perniziöse Anämie wie folgt:

Fall 1. Wa. Ø, rund 50,0 mg Gesamtcholesterin und 57% Ester (neben 50,7 mg Lecithin in 100 ccm Serum).

Fall 2. Wa. Ø bezüglich 38,0 mg, 42% (19,5 mg).

Über den Charakter und die methodischen Voraussetzungen der an sich sehr niederen Zahlen ist a. a. O. zu sprechen.

Versuchen wir zu dem Material von Beumer und Bürger Stellung zu nehmen, so rücken wir die Bedenken voran, die sich auf Vorbereitung, Verarbeitung und Analyse beziehen. Es darf in dieser Hinsicht auf Lecithin, aber auch auf die Cholesterinfraktion hingewiesen werden. Der Standpunkt von Beumer und Bürger wird besonders der allgemeinen chemischen Einstellung des Organismus gerecht. Aber man hat doch zu geringe beschreibende Unterlagen an der Hand. Vor allem ist durch diese Angaben eine starke Gegensätzlichkeit in die bis dahin reichende Literatur hineingewachsen. Doch sind die zwei Detailanalysen in jeder Hinsicht (nach ihrer Zeit) ein Markstein. Die Farbstoffe und Chromogene stehen heute auf gänzlich anderen Grundlagen. Wertvoll ist die Mitteilung anderer Befunde nach den veränderten methodischen Charakteristiken. Schematisch wird sich empfehlen, den Einzelfragen im Sinne von Beumer und Bürger zu folgen. Besondere Aufmerksamkeit entfällt auf Größe und Gliederung des Extraktes im Hinblick auf die jeweilige Serumkonzentration; damit müssen also Fälle, die eine der Norm wenigstens nahe Dichte zeigen, ganz besonders in dem Werte ansteigen. Gleiches kann unter Umständen die rechnerische Verknüpfung der Fraktion und Glieder des lipämischen Komplexes darbieten (s. u.).

An zweite Stelle rückt eine von Medak (1914) veröffentlichte Untersuchungsreihe, die in Konnex zu den Arbeiten von King steht. Über diese ist kurz zu berichten.

Nach Faust und Tallquists Vorgange denkt Medak daran, daß sich bei hämolytischen Anämien ein hämolytisches Agens (enterogenen oder beliebigen anderen Ursprungs) aus der Reihe der ungesättigten Fettsäuren, vom Typ der Ölsäure finden könne. Die Aufgabe, ob bei hämolytischen Krankheiten etwa proportional zu deren Schwere, ungesättigte Fettsäuren im Blute vorkommen, wird in Ausdehnung der

von Joannovics und Pick wie von King durch Jodzahlanalysen angegriffen. Einbezogen wurde die Milz mit der Fragestellung, ob sie die etwa anzunehmenden Körper in die Blutbahn entlasse. Im selben Sinne wird Cholesterin (freies als Ester) nach seiner antihämolytischen Fähigkeit gewürdigt. Die Verarbeitung ist durch Alkoholfällung und Extraktion gekennzeichnet. Gegenüber Kings Jodzahlen ist eine Verfeinerung am Platze, die die absoluten und relativen Abstände vergrößert.

Kings Studien lehrten (bei Tierexperimenten) ein Steigen der Lipämie nach Milzexstirpation unter Sinken der Jodzahl und Anwachsen des Cholesterins, besonders (relativ) des freien. Die Erscheinung zeigt sich nur im Serum, nicht in den Erythrocyten, deren Bestand an Cholesterin gleichzeitig fällt. Toluylendiamintiere zeigen hohes Gesamtcholesterin, das sich nach Splenektomie verdoppelt unter mäßig sinkender Jodzahl. Chlorattiere gaben in beidem Sinne niedere Ausschläge. King benennt bei perniziöser Anämie (schwere Fälle) hohe Jodzahlen, die bei Splenektomie unter objektiver Besserung fallen. Hämochromatose zeigt hohes Cholesterin, niedere Jodzahl. Bei Ca-Anämie und -Kachexie (die Blutbilder ähnelten sich der Perniciosa an) fanden sich niedere Jodzahlen. Bei Morb. Werlhofii ist die Jodzahl hoch, bei Polycythämie sehr hoch; bei Diabetes zeigt alipämisches Koma hohe, lipämisches niedere Zahlen.

Medak vermißt die Möglichkeit, die Ergebnisse Kings in ein Schema zu bringen (Unmöglichkeit direkter Vergleiche zwischen Kings und den eigenen Jodzahlen).

Unter Beiseitelassung der den Stauungsikterus belangenden Befunde haben wir aus den Reihen Medaks folgende zu bekennen. Tabelle I (perniziöse Anämie) Gesamtfett 0,5936 g, freies Cholesterin 0,7537 g, verestertes desgl. 0,6560 g.

Sehen wir von der begrifflichen Seite der Sache ab („Gesamtfett"), so müssen wir — auch die Frage der Jodzahlen ist für sich zu behandeln — das Hauptgewicht bei Medak auf das Fehlen der gleichzeitigen unerläßlichen Konstanten der Blutflüssigkeit (s. u.) legen. Den Schritt zur vergleichenden Beurteilung der Glieder untereinander kann man nach Medak nur teilweise tun. Zusammengehalten mit den übrigen Zahlen (s. u.) ist jedenfalls diese Einzelbeobachtung mit einem hohen Esterprozent der Cholesterinfraktion ausgestattet. Die ferneren Zahlen s. u. an entsprechender Stelle.

Rücken wir nun noch Zahlenreihen zu den Fällen Bloors[1]) ein, deren Daten in folgendem gegeben sind, und lassen

[1]) W. R. Bloor berichtet in seiner zusammenfassenden Mitteilung unter weiteren beschreibenden Ergebnissen, die das Gesamtgebiet umfassen und derzeit unter dem einschlägigen Material mit Vorsprung an der Spitze stehen, über 4 Fälle von perniziöser Anämie. Klinische Details fehlen, desgleichen fernere Ergebnisse der Chemie von Blut und Serum. Es handelt sich um die Nrn. 16, 21, 82 (♂) und um Nr. 14 (♀) der Tabelle II. Sie zeigen die Körperchenvolumina mit 17, 25, 10 bzw. mit

wir ferner alle speziell den besonderen Umkreis der Cholesterinfrage belangenden Beobachtungen und Urteile zurück (für spätere Sonderbesprechung), so ist zu ersehen, wie gering das bisher vorgelegte Beobachtungsmaterial über die Umstimmungen des lipämischen Komplexes bei perniziöser Anämie überhaupt ist. Es sind in toto 7 Fälle beschrieben, die nicht vergleichbar genannt werden können. An der Spitze stehen unstreitig diejenigen von Beumer und Bürger, spezialistisch ohne weitere Konstanten sind die analytisch und rechnerisch präzisen Befunde von Bloor, während die Medaks (und solche Kings, die eventuell in Zusammenhang zu setzen sein würden), keine große Bedeutung erlangen können, da ihnen die sonstige Chemie der Blutflüssigkeit nach Zahlen, auch klinische Angaben fehlen, und da technische Bedenken nicht ganz von der Hand zu weisen sind.

Wie weit mit Befunden über das Lipämiegebiet — isoliert oder gegenseitig verknüpft — ohne Unterlagen aus der Cytologie und der Konzentration vom Flecke zu kommen ist, das muß sich zeigen. Cholesterinzahlen allein können die Vorkommnisse nicht erhellen, da sie erst in ihrer Einordnung zum Fett-Lipoidbestande belebt werden (cet. par.). Beumer und

11. Gesamtfettsäuren bzw. Lecithin bzw. Gesamtcholesterin bzw. Neutralfett sind gegeben mit 440,0 mg; 410,0 mg; 370,0 mg und mit 420,0 mg bzw. mit 180,0 mg; 150,0 mg; 140,0 mg und mit 120,0 mg bzw. mit 180,0 mg; 210,0 mg; 160,0 mg und mit 150,0 mg bzw. mit 220,0 mg; 160,0 mg; 190,0 mg und mit 250,0 mg für Plasma, indem die Gesamtextrakte auf 670,0 mg; 620,0 mg; 570,0 mg und auf 600,0 mg fallen. In den Erythrocyten lauten die ersteren Zahlen in entsprechender Anordnung 260,0 mg; 530,0 mg; 370,0 mg und 420,0 mg bzw. 360,0 mg; 510,0 mg; 340,0 mg und 390,0 mg bzw. 230,0 mg; 210,0 mg; 160,0 mg und 150,0 mg bzw. Ø; 170,0 mg; 120,0 mg und 140,0 mg. Die Relation Gesamtfettsäuren zu Lecithin fällt für Plasma auf 2,44; 2,64; 2,15 und auf 3,50; für Erythrocyten auf 0,72; 1,04; 1,10 und auf 1,08. Die Angaben über die Ergebnisse im Vollblute dürfen wir in diesem Zusammenhange wohl beiseite lassen. Aus der Betrachtung dieser Zahlen, die sinngemäß an eine andere Stelle im Texte fällt, ist hierfür hervorzuheben, daß (selbst unter der gebotenen Voraussetzung, daß Hydrämien vorlagen, s. u.) von tatsächlicher Minderung des Gesamtkomplexes billigerweise keine Rede sein kann.

Bürger haben für diese Krankheit, wie in größeren Reihen später Feigl, betont, welche hohe Bedeutung der klinisch und diagnostisch belegte Allgemeinzustand für das Verständnis von zahlenmäßigen Ergebnissen im Gefolge haben muß. Auf ihre (obigen) Ausführungen ist ebenso hinzuweisen, wie auf die einschlägigen Äußerungen von Feigl. Das ist besonders in Rücksicht auf erhöhte Esterbildung bei Angebot freier Fettsäuren von Interesse, ferner auch für Angaben von Feigl, der bei langdauernder Inanition, die der „allgemeinen Atrophie des Blutes" (im Austausch mit den Organbeständen) entsprechen kann, sinkende Cholesterinzahlen mit niederen Esterquoten feststellte. Innerhalb solcher, die für stationäre Zustände konstant sind (und bei der Gesamtgröße auch von Denis an klinischem, von Dezani an experimentellem Materiale gesehen wurden), kann durch anderweitige (einschmelzende) Noxen aller Art kurz und scharf das Gesamtcholesterin anwachsen. Die Frage der Hungerlipämie (Bloor, noch andere) gehört hierher. Der sonst relativ konstante Spiegel des summarisch als Lecithin bezeichneten Gesamtphosphatidgemenges kann bei „Herunterkommen" auch ohne Verwischung durch gleichzeitige Hydrämie gewaltig sinken (Feigl), andererseits durch besondere pathologische Vorgänge (Nervensystem, Fraenkel, Feigl u. a.) erheblich außerhalb klarer lipämischer Allgemeinbeziehungen ansteigen. Feigl hat solche „chemische Erschöpfungen" auch mit verschwindendem Neutralfett, über die Angaben von Beumer und Bürger hinaus (Inanition läßt die Erythrocyten intakt, Kachexie greift diese an, hält die Bestände des Serums aufrecht) einhergehen sehen. Speziell das „Lecithin" hat Feigl in neuen Beobachtungen charakterisiert. In diesen ist die Spezialforschung über die Auflösung des Gesamtphosphatidgemenges in einzelne Fraktionen nicht mit aufgenommen worden, die Beumer und Bürger (1913) veröffentlichten. Einstweilen in der Diskussion nach den Möglichkeiten mikrochemischer Analysenverfahren zurückgestellt, haben wir an dieser Stelle, verknüpft mit den Spekulationen von King und Medak, die hohe Bedeutung derselben zu unterstreichen. Sie gipfeln in der Feststellung, daß das „Lecithin" der Erythrocytenstromata überwiegend von Sphingomyelin bestritten wird, neben dem Kephalin, ein ätherlösliches Diaminomonophosphatid und ein wasserlösliches Phosphatid,

vorkommen. Ca-Blut und normales Blut ergaben bisher keine Unterschiede. Verbinden wir die Diskussion mit den jüngsten Forschungen über Systematik der Phosphatidgruppe (Bock, Erlandsen, Fraenkel, Thierfelder, Mac Lean), so ersehen wir über die ungegliederten Fettsäurereste (auch nach eigenen Feststellungen) folgendes: Sie bestimmen weitgehend den Charakter des Phosphatids, indem verschiedene Gruppen sich mit dem Bestande differenter Säuren charakterisieren, was besonders von dem Gehalte an Ölsäure, Linolsäure (als Typen) gilt. Fraenkel fand Myristinsäure u. a. m.

Feigl hat, ausgehend von der Vorstellung, daß die diabetische Lipämie durch Fettanhäufung entstünde, Fälle geeigneter Art mit Arachisöl als Fettquelle „geladen" und dann nach Wochen im Neutralfett des Plasmas reichlich Arachinsäure gefunden. Parallel wurde „Lecithin" aufgearbeitet und — auch relativ — nur wenig davon gefunden. Obschon nun die „Lecithinbildung" (Bloor), jedenfalls die Beteiligung des „Lecithins" am diabetischen Lipämiefett höherer Grade (Feigl) relativ zurückgeht, aber andererseits in gewissem Zusammenhange mit dem Fettstoffwechsel überhaupt steht, ist also hier das Eingehen heterologer Fettsäure in die Moleküle des Begriffes der Gesamtphosphatide als recht untergeordnet erweislich. Näheres über diese Versuche, die sich auch auf die Speicherung der im Organismus umgebauten Derivate pflanzlicher Pigmente zu Xanthophyllen, Carotinen (Xanthose bei Diabetes, Bürger) und auf die Erscheinungen von seiten der schematisch als Luteine bezeichneten (reaktiv gefaßten) Körperklasse beziehen, ist an geeigneter Stelle für sich zu bringen.

Das Krankenmaterial ist hier (wie in den späteren Gruppen) des einzelnen in Tabelle I näher definiert. Die Details entsprechen den derzeitigen Formen; besonderer Wert wird auf Serum gelegt (s. dort).

Tabelle I.

Perniziöse Anämie.

1. Mi., 45 ♂. Schwerster Allgemeinzustand. Ödem. Rektalblutungen. 14% Hb., 520000 Erythroc., 2200 Leukoc. Hautfarbe blaßgelblich, 37,8°, Urologie o.B. Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wassergehalt 62% (I), 92% (II). Körperchenvol. 9,5%. Eiweiß 18% (I), 6% (II). R.-N

46,0 mg, Ůr-N 20,0 mg, Amino-N 26,0 mg bzw. 18,0 mg, Wa. Ø. Serum trüb, Ht. leicht +, Bil. ++, Diazo stark verspätet ++, + (Sektion fehlt), Urobilin ++.

2. Ka., 50 ♂. Herzgeräusche, Ascites, Ödem; Augenhintergrund zeigt Blutungen und weiße Flecke. 32% Hb., 1,3 Mill. Erythroc., 5000 Leukoc. Poikilo-Anisocytose, mäßige Polychromatophilie, Normoblasten. Hautfarbe fahl, 37,5°, Urologie o. B., Urobilin ++. Blutkörperchen (I) und Serum (II): N(D). 1,3477 (subnormal), Wassergehalt 63% (I), 90% (II), Dichte (Serum) 1026. Eiweiß 32% (I), 8% (II). R.-N. 36,0 mg, BZ. 0,14%. Wa Ø, Widal Ø. Ht. Spur, Bil. schwach +, Diazo verspätet, Körperchenvol. 28%, wesentlich gebessert.

3. Scho., 45 ♂. Eintritt 1914 (jetzt 1917) Systole, Leber +, Milz Ø. Kleine Retinablutungen, 38% Hb., 1,6 Mill. Erythroc., 12000 Leukoc., 67% kleine Lymphoc. Starke Aniso-Poikilocytose. Hautfarbe blaßgelblich subikterisch. 38°, Urologie o. B., Urobilin ++, Körperchenvol. 18% Serum trübe.

a) Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wasser 66% (I), 90% (II). Eiweiß 32% (I), 7,5% (II), Dichte (Serum) 1028. Rückstand 34% (I), 10% (II), R.-N 48 mg, BZ. 0,16%. Leicht verminderte Toleranz für Glucose, Lävulose, Galaktose. Ht. Spur schwach +, Bil. +, Diazo + spät, Res. H 1; 0,69.

b) Nach wesentlicher Besserung Hb. 60%, 3,8 Mill. Erythroc., 2200 Leukoc., (47% kleine Lymphoc., 15% Eosinophile), 36,3°, Urobilinurie +; Serum kaum hydrämisch, klar, Körperchenvol. 32%. Ht. leicht +, Bil. +, Diazo + spät, Urobilin +, Wa. Ø, weiter gebessert.

4. Rik., 53 ♂. Hb. 60%, 2 Mill. Erythroc., 2600 Leukoc., (52% kleine Lymphoc., 6% Eosinophile), Normoblasten, Poikilocytose, Anisocytose mäßig. Hautfarbe blaßgelblich, 36,4°, Urologie o. B.

a) Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wasser 65% (I), 89,5% (II), Trockensubstanz 35% (I), 11,5% (II), Eiweiß 32,5% (I), 8,5% (II). R.-N 24,0 mg, Ůr-N 16,0 mg, Aniso-N 18,0 mg bzw. 13,0 mg, BZ. 0,16%, Körperchenvol. 20%, Wa Ø, Ht. leicht +, Diazo spät.

b) Später Leber +, Milz +, Hb. 70%, 2,3 Mill. Erythroc., 1800 Leukoc. (38% Lymphoc., 2% Eosinophile). R.-N 69,0 mg, Ůr-N 30,0 mg, Aniso-N 39,0 mg bzw. 30,0 mg, Ūr 6,0 mg, Kreatin 2,5 mg, Kreatin 8,5 mg, Restbetrag 3,0 mg. Sehr gebessert.

5. Hts., 48 ♀. Leichte Ödeme der Beine. 43% Hb., 2,1 Mill. Erythroc., 3800 Leukoc. (33% Lymphoc., 4% Eosinophile, Poikilo-Anisocytose stark). Hautfarbe blaßgelb, 37,6°, Urologie Urobilin ++.

a) Blutkörperchen und Serum ähnlich wie Fall 4. Unbedeutende Hydrämie, Serum leicht trübe. R.-N 34,0 mg, BZ. o. B., Körperchenvol. 30%. Ht. ++, Htporph. Verdacht, Bil. +, Diazo + spät, Wa. Ø. Gebessert.

b) 2. Entnahme Ht. ++, 22% Hb. usw., wieder gebessert. Serum trübe, leichte Hydrämie. Körperchenvol. 15%.

6. Ku., 35 ♀. 37% Hb., 1,1 Mill. Erythroc., 3400 Leukoc. (starke Aniso-Poikilo, 5% Lymphoc., 4% Eosinophile). Hautfarbe fahl, 37,6°. Urologie, E. Spur, Z. Ø. Sedimentbefund. Urobilin +.

7. Zt., 41 ♀. Leber Ø, Milz +, 35% Hb., 770000 Erythroc., 2200 Leukoc., 37,6°. Hautfarbe fahl, Urologie o. B. Urobilin +. Blutkörperchen und Serum: Ht. Ø bis Spur, Bil. Spur, Diazo leicht + spät. Wasser, Eiweiß, Rückstand der Körperchen fast o. B. Serum mäßig hydrämisch, klar, Wa Ø. Gebessert.

8. Glä., 51 ♀. Leber leicht +, Milz leicht +, 15% Hb., 1 Mill. Erythroc., 1800 Leukoc., 37,7°. Leichter Ikterus. Urologie keine Befunde. Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wasser 657‰ (I), 927,8‰ (II), Rückstand 343‰ (I), 72,2‰ (II), Eiweiß 321‰ (I), 58,2‰ (II). Serum leicht trübe, R.-N 42,0 mg, BZ. 0,16%. Ht. +, Diazo + spät, Körperchenvol. 9%. † Sektion: Perniz. Anämie, Tigerherz, Eisenleber, Lungenödem, Blutungen u. a. im Hirn. Wa Ø.

9. Uni., 62 ♀. Leber etwas +, Milz Ø, 33% Hb., 1 Mill. Erythroc., 3000 Leukoc. (44% Lymphoc.), 37,6°. Urologie, E. Spur, Urobilin +. Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wasser, Trockenrückstand, Eiweiß (I) o. B, (II) leicht hydrämisch, trübe. Körperchenvol. 9,7%. R.-N 30,0 mg, BZ. 0,12%. Bil. ++, Diazo dgl. spät, Ht. ++, Wa. Ø. † Sektion: Schwere perniciöse Anämie, Eisenleber, Lymphoidmark, Coronar-Arteriosklerose, Herzhypertrophie usw., Pericarditis usw.

10. Tx., 47 ♂. Leber +, Milz Ø, 32% Hb., 1,6 Mill. Erythroc., 3000 Leukoc. Urogenchemismus: starkes HCl-Defizit, 36,8°. Leichter Ikterus. Urologie o. B., Urobilin +.

a) Blutkörperchen (I) und Serum (II): (I) Konzentrationen o. B., (II) noch normal, klar. Körperchenvol. 12,5%. R.-N 45,0 mg, BZ. 0,11%, leichte

Senkung der Toleranz für Lävulose. Ht. ++, O_2Hb. +, Diazo + spät. Wa Ø.

b) Zweiter Termin 12% Hb. usw. Ht. ++, Bil. ++, Diazo ++. Serum extrem hydrämisch, fast klar. Körperchen o. B. † Sektion: Starke Anämie der Organe, Eisenleber, Lymphoidmark usw.

11. Stt., 53 ♂. Ödem, Leber +, 20% Hb., 1,4 Mill. Erythroc., 3000 Leukoc. (ferner wie oben). Subikterus der Haut, 36,6°. Urologie o. B., Urobilin ++. Blutkörperchen (I) und Serum (II): (I) etwas erhöhte Konzentration für Eiweiß, (II) leicht hydrämisch, trübe. R.-N 29,0 mg, BZ. o. B., Ht. Spur, Diazo + spät. Körperchenvol. 12%. Magenchemismus Anacidität. Exsudate Blutungen. † Sektion. Fettige Degeneration des Herzens, Eisenleber, Gastritis, Enteritis, Arteriosklerose usw.

12. Jp., 56 ♂. Herzgeräusche, 40% Hb., 1,5 Mill. Erythroc. (Aniso-Poikilocytose, Gigantocyten. Keine Polychromasie, Subikterus, 37,2°, Urologie o. B. Blutkörperchen (I) und Serum (II): hydrämisch, Körperchenvol. 14%. R.-N 38,0 mg, BZ. 0,14% (herabgesetzte Toleranz für Galaktose). † Sektion: Starke Anämie, Siderosis, Herzhypertrophie, Arteriosklerose.

13. St., 52 ♀. Seit 4 Monaten Erscheinungen. Mittlerer Ernährungszustand, Leber +, Milz Ø, Ödem Ø, 28% Hb., 1,2 Mill. Erythroc., 1400 Leukoc. (37% Lymphoc., Aniso-Poikilocytose, Polychromatophilie). Extrem blaß, 37,6°. Urologie, E. Spur, Urobilin ++.

a) Blutkörperchen (I) und Serum (II): (trüb), (I) o. B., (II) keine Hydrämie, Körperchenvol. 11%. R.-N 25,0 mg, Ūr 5,0 mg, Alkalescenz gesenkt, BZ. 0,14. Res. H. 1; 0,66, Wa Ø, Ht. ++, Bilirubin (direkt) ++, Diazo ++ verzögert, Urobilin +.

b) Blut und Serum: 2. Prüfung nach vorhergehender Besserung durch As, 38% Hb., 1,7 Mill. Erythroc., 4000 Leukoc., Res. H. 1, 0,69 (trübes Serum), Ht. ++, Bilirubin ++, Diazo ++ spät, Urobilin ++. Serum klar, leicht hydrämisch.

c) Kurz ante exitum, 10% Hb., 280 000 Erythroc., Hydrämie, Ht. ++, Diazo ++, hernach †. Sektion: Perniz. Anämie. Lymphoidmark, Lipomatose Cor, Arteriosklerose, Milz +, Leber +.

14. Bo., 37 ♂. Seit $^1/_4$ Jahr. Mittlerer Zustand. Leber Ø, Milz Ø. Leichte Ödeme. Chronische Arthritis der Knie, Anacidität. 22% Hb., 1 Mill. Erythroc., 4000 Leukoc. (45% kleine Lymphoc., 6% Eosinophile usw.). Leichter Hautikterus, 37,8°, Urologie o. B., Urobilin ++. Blutkörper-

chen (I) und Serum (II); (I) o. B., (II) hydrämisch, 920 $^0/_{00}$ Wasser usw., Körperchenvol. 10 $^0/_0$. R.-N 32 mg, BZ. 0,1 $^0/_0$, Wa. Ø, Res. H. 1, 0,6, Ht. +, Bilirubin ++, Diazo ++, Urobilin +. † Sektion Ø.

15. Roc., 32 ♀. Mittlerer Zustand. Anacidität. 57 $^0/_0$ Hb., 2,8 Mill. Erythroc., 5000 Leukoc. (Aniso-Poikilocytose, 34 $^0/_0$ Lymphoc., 6 $^0/_0$ Eosinophile. Blaß, 36°, Urologie o. B., Urobilin +.

a) Blutkörperchen (I) und Serum (II): Ziemlich o. B., Körperchenvol. 28 $^0/_0$. R.-N 43,0 mg, BZ. 0,17 $^0/_0$, O_2Hb. +, Ht. Spur, Diazo + spät. Wa. Ø.

b) Gebessert. 60 $^0/_0$ Hb., 3,7 $^0/_0$ Erythroc., 6600 Leukoc. (21 $^0/_0$ Lymphoc.). Blutkonzentration o. B., R.-N 36,0 mg, BZ. 0,08 $^0/_0$.

16. Pa., 29 ♀. Schlechtester Zustand, Leber +, Milz +, leichte Ödeme, Ascites, Subikterus 38°, Hb. 11 $^0/_0$, 1,1 Mill. Erythroc., Leukocyten wie in den typischen Fällen. Körperchenvol. 8,9 $^0/_0$. Blutkörperchen (I) und Serum (II): Wasser bzw. Trockensubstanz bzw. Eiweiß 660,1 $^0/_{00}$ (I), 918,0 $^0/_{00}$ (II) bzw. 340 $^0/_{00}$ (I), 82 $^0/_{00}$ (II) bzw. 330 $^0/_{00}$ (I), 60 $^0/_{00}$ (II). Serum trübe, R.-N 42,0 mg, $\overset{+}{\text{U}}$r-N 18,0 mg, Amino-N 24,0 mg bzw. 15,0 mg. Kreatin 12,0 mg, Kreatin 3,0 mg, $\bar{\text{U}}$r 5,0 mg. Restbetrag 2,0 mg. Ht. ++, O_2Hb. Ø, Bil. ++, Diazo ++ spät, Urobilin ++, Wa. Ø. BZ. 0,14 $^0/_0$, Urin E. +, Z. Spur, Urobilin ++ († Sektion, fehlt).

17. PB., 35 ♀. Guter Ernährungszustand, schneller Verlauf, Leber +, kein Ödem, Milz +, Subikterus 38°. Hb. 10 $^0/_0$. 400000 Erythroc., 2400 Leukoc. (s. o.), Körperchenvol. 6,1 $^0/_0$. Ht. ++, Diazo + spät, Urobilin ++. Körperchen chem. o. B., etwas eiweißreich, Serum kaum hydrämisch, trübe. R.-N 31,0 mg, BZ. 0,14 $^0/_0$. Urin E. +, Z. Spur, Toleranz für Lävulose, Glucose, Galaktose gesenkt. Urobilin ++.

Die analytischen Ergebnisse des Lipämiegebietes enthält Tabelle II. Ihre Zusammenstellung ist nach den früheren Berichten des Verf. zu erklären. Ihr sind unter „Plasma" weitere chemische Seitenangaben beigefügt. Zu jedem Falle bzw. zu jedem Termine gehören zwei untereinander laufende Zeilen, deren obere das Lipämiegebiet des Plasmas, deren untere das der Erythrocyten wiedergibt. Vollblutanalysen fehlen.

Tabelle II.

Fette und Lipoide im Blutplasma des Menschen bei perniziöser Anämie.

Material orientiert nach der Aufstellung klinischer Daten in Tabelle 1.
Lecithin, Cholesterin frei bzw. in Esterbindung, Neutralfett, Gesamtfett-

säuren, Gesamtätherextrakt. Beziehungen der Komponenten des Gesamtextraktes untereinander sowie als Teilfraktionen des letzteren. Nebenangaben, Methoden und Rechnungen nach W. R. Bloor.

Zahlen in Milligramm bzw. in Gramm (Gesamtextrakt) für 100 ccm Plasma. Nüchternwerte bei (eingeschränkter) Fettgabe in Standarddiät.

Laufende Nr. Zeichen Serum	Plasma (Beschaffenheit)	Gesamtfett-säuren mg	Lecithin mg	Cholest. Gesamt mg	Cholest. Esteranteil in Proz.	Neutralfett mg	Gesamtextrakt g	Lecithin / Cholesterin (abgerundet)	Gesamtfettsäuren / Lecithin (abgerundet)	In Proz. vom Gesamtextr. Lecithin (abgerundet)	In Proz. vom Gesamtextr. Gesamt-cholesterin (abgerundet)	In Proz. vom Gesamtextr. Neutralfett
1. Mi.	stark hydrämisch, klar	270	120	170	70	105	0,48	0,7	2,3	25	35	22
2. Ka.	hydrämisch, klar . .	570	200	220	76	325	0,87	0,9	2,8	23	25	67
3. Scho. a)	hydrämisch, klar . .	725	250	250	80	420	1,07	1,0	2,9	25	20	43
b)	fast o. B., klar . . .	604	270	290	66	295	1,00	0,9	2,2	27	29	30
4. Rik. a)	o. B., stark trübe . .	710	300	280	69	378	1,1	1,1	2,4	30	28	38
b)	o. B.	600	260	270	36	295	0,96	1,0	2,3	25	20	28
6. Hts. a)	o. B., trübe	650	220	190	70	420	0,93	1,2	3,0	28	18	40
b)	leicht hydr., l. trübe .	480	180	150	58	305	0,70	1,2	2,7	26	21	44
6. Ku.	leichte Hydr., klar .	490	200	220	66	252	0,78	0,9	2,5	26	28	32
7. Zt.	hydrämisch, klar . .	560	210	200	77	315	0,86	1,1	2,7	24	23	37
8. Glä.	stark hydräm., trübe	625	250	260	66	340	0,98	1,0	2,5	25	26	34
9. Uni.	leicht hydräm., trübe	590	270	300	50	315	0,99	0,9	2,2	27	30	32
10. Tx. a)	o. B., trübe	447	310	330	45	126	0,88	0,9	1,4	35	38	14,5
b)	hydrämisch, fast klar	401	150	160	80	210	0,62	0,95	2,7	24	26	34
11. Stt.	leicht hydr., l. trübe .	550	140	180	66	380	0,79	0,8	4,0	17	22,5	48
12. Jp.	hydrämisch, klar . .	370	120	170	66	200	0,59	0,7	3,1	20	28	33
13. St.	fast o. B., stark trübe	625	280	270	45	357	1,00	1,0	2,2	28	27	36
	leicht hydräm., klar .	560	200	220	76	315	0,87	0,9	2,8	23	25	36
	stark hydräm., klar .	350	150	150	70	210	0,61	1,0	2,3	25	25	35
14. Bo.	hydrämisch, klar . .	317	140	130	40	190	0,52	1,1	2,3	27	25	37
15. Roc. a)	ziemlich o. B.	373	210	240	50	150	0,68	0,85	1,8	30	35	22
b)	ziemlich o. B.	452	270	310	40	180	0,85	0,9	1,7	32	36	21
16. Pa.	stark hydr., l. trübe .	210	150	110	66	85	0,40	1,4	1,4	37	27	22
17. PB.	kaum hydr., st. trübe	750	330	250	80	420	1,12	1,5	2,3	30	22	39

Bemerkung: Einzelmethoden sowie Rechnungen und Voraussetzungen der Verf. von Bloor werden im Hinblick auf frühere Mitteilungen des Verf. über das Lipämiegebiet (diese Zeitschr. **1918**, Nr. II bis IV; **1919**, Nr. V) vorausgesetzt.

Besprechung der Ergebnisse über das Lipämiegebiet bei perniziöser Anämie.

Das Material läßt sich nach gewissen Gesichtspunkten zergliedern. Wir gehen von der Organbeteiligung — Leber und Milz als Stätten besonderer Erscheinungen des gesamten Fettstoffwechsels — aus. Die Leber wurde klinisch „leicht +" bis „+" befunden in den Nrn. 3, 8, 9, 11, 13, 16, 17, d. i. 7 mal bei einer Reihe von 17 Fällen (rd. 40%); ausgesprochen „0" waren nur 4 Fälle.

Die Milz fand sich klinisch „+" Nr. 7, 8, 16, 17 (rd. 24%), desgl. 0 (ausgesprochen) 5 mal. Ödeme, meist in gewissem Zusammenhange mit gesteigertem Wasserreichtum des Serums, fanden sich in den Fällen Nr. 1, 2, 5, 14, 16; Hydrämien waren auch ohne Ödeme vorhanden (z. B. bes. in Fall 7) usw.

Hyperglykämien mäßiger Grade waren ersichtlich in vielen -Fällen. Funktionell wurde Leberschädigung durch Toleranzver suche mit den üblichen Kriterien erwiesen. Eigentliche Glykosurien fehlten. Das Gebiet des R.-N war zumeist alteriert; indes handelt es sich um geringe Grade, für die auch Fieber nicht als Ursache gelten muß. Auf die Werte für Trockenrückstand, Eiweißgehalt, Wassergehalt der Elemente der Blutflüssigkeit ist nur hingewiesen (bis zum gewissen Grade handelt es sich um relative Zahlen). Die ganze Reihe ist Wa. 0 (aus dem Labor. Dr. F. Graetz stammende Angaben nur schematischer, nicht verfeinerter Art). Körperchenvolumen (Boenniger), Erythrocytenzahl und Hämoglobinzahlen (Sahli) sind aus der Tabelle ersichtlich. Es ist zuzugeben, daß letzteren Werten relativ große Fehlerbreiten anhaften. Die detailliert gegebenen Befunde über Hämatinämie, Bilirubinämie (durch Oxydation) sowie die Erscheinungen der Diazoreaktion sind nach Feigl und Querner, nach Feigl und Deussing orientiert und schließen sich den Befunden von Hymans van den Bergh und von Schumm an. Diazo ist stets „verzögert" (anhepatisches Bil.). Es besteht weitgehende Parallelität zwischen beiden Nachweisformen des Gallenfarbstoffes in Hinsicht auf die absoluten Grade. Auch bei stärkerer Leberbeteiligung (s. u.) waren keine „prompten" Diazoproben, desgl. keine „zweiphasigen" vorhanden. Über Verbreitung des Hämatins hat Feigl a. a. O.

berichtet; statistisch sind diese Fälle hinzu- und mitgeordnet brauchbar, da sie eine Auswahl zur detaillierten Lipämieuntersuchung darstellen. Jedenfalls ist die Hämatinämie eine sehr verbreitete Erscheinung und von großer Bedeutung darum, weil sie mit der verzögerten Diazoprobe (offenbar in gewisser Ursächlichkeit) zusammengeht, weil sie das Verständnis für den physiko-chemischen Zustand des „Lipämiegebietes" fördert, und weil offenbar alle hämatinämischen Vorkommnisse (mit verzögerter Diazoprobe) eine gewisse Sonderstellung gegen cholämische (mit prompter Diazoprobe) einnehmen, und weil wir mit unserer Reihe unter das bezüglich des Lipämiegebietes so vielgestaltige Gebiet der Bluterkrankungen eingehen.

Gehen wir nun zur Besprechung der Gesamterscheinung des Lipämiekomplexes und seiner Beziehungen über, so stellen wir die dem analytischen und rechnerischen Schema nach Bloor und nach Feigl entsprechenden Normalien voran.

Wir machen die mehrfach von Feigl (besonders Cholesterin betreffenden) betonten Einschränkungen geltend. Plasma: Lecithin 170,0 bis 320,0 mg, Cholesterin (Gesamt-) 190,0 bis 310,0 mg (Bloor), bis 300,0 mg (Feigl), Mittel 220,0 bis 200,0 mg, Neutralfett 40,0 bis 200,0 mg — Gesamtfettsäuren 350,0 bis 500,0 mg — Gesamtextrakt 550,0 bis 850,0 mg (rechnerisch formuliert, Bloor). Relativ Lecithin zu Cholesterin 0,75 bis 1,25; relative Gesamtfettsäure zu Lecithin 1,4 bis 2,7 — großes Mittel 1,70 bis 2,00. Erythrocyten (Bloor) in entsprechender Anordnung 350,0 bis 440,0 mg (450,0 mg, Feigl), Mittel rd. 400,0 mg; 170,0 bis 240 mg; Ø bis 150,0 mg, Mittel um 50,0 mg; 290,0 bis 450,0 mg (Mittel 300,0 bis 350,0 mg). Die Relationen sind 0,7 bis 1,15 bzw. 1,8 bis 2,6 mit den Mitteln 0,7 bis 0,9 einerseits und rd. 2,0 andererseits.

Auf die wichtige, aber strittige Frage der Ester in den Körperchen (Beumer und Bürger, Kauders u. a.) ist hinzuweisen, auf die alimentären Herabstimmungen, die alle Elemente betreffen, auf die bestimmt gerichteten pathologischen Zuwachserscheinungen u. a.

Ausgehend von der namentlich von Beumer und Bürger vertretenen Lehre, daß die Wertigkeit der Erythrocyten hoch sei, und daß unter Umständen der Eiweißbestand leicht erhöht sein könne, haben wir dieser Aufgabe uns besonders zuzuwenden. Bei Bloor ist Lecithin einmal niedrig (Nr. 16), gemeinhin niedrig (Nr. 82). Cholesterin niedrig ebenda. Gesamtfettsäure hoch (Nr. 21), ihre Relation zum Lecithin desgleichen. In einem Fall mit Lues ist das Cholesterin gesenkt (Nr. 14), Relation der Fettsäure zu Lecithin hoch. Abgesehen von dem

letzteren bieten also die Befunde ein buntes Bild aller möglichen Varietäten.

Beumer und Bürger finden (vgl. Methodenkritik) herabgesetzte Zahlen von rd. 100,0 mg, und auch normale von rd. 200,0 mg; Erben fand eine extrem hohe Zahl: 400,0 mg.

Was unsere eigenen Zahlen angeht, so schlossen wir zunächst Wa.-+-Fälle aus. Immerhin kann die technisch einfachste und daher in mancher Hinsicht nicht voll befriedigende Form der Wa.-R., die für uns allein zu Gebote stand, keinen Aufschluß von großer Tragweite liefern. Die methodischen Fragen betreffen besonders hinsichtlich des Lecithins die älteren Zahlen, die an sich unbestimmt und jedenfalls relativ niedrig ausfallen mußten. Wir rücken also im Vergleich näher an Bloors Befunde — die von Medak kommen hier überhaupt nicht in Frage — heran. Unsere Reihe zeigt die merkwürdigsten Bilder, aus denen man schwer zu gesetzmäßigen Vorstellungen kommt. Tatsache ist, daß sich die Lecithinwerte kaum orientieren lassen. Bei As-Therapie waren sie hoch, in den extremsten Fällen immer noch atypisch gegeneinander abweichend. Bei gutem Ernährungszustande waren sie relativ hoch; Beziehungen zu Leber und Milz sowie zum Eiweißbestande usw. fehlen auch. Die Extreme waren 510,0 mg (Nr. 4); 500,0 mg (Nr. 17), rd. 100,0 mg (Nr. 16) und rd. 120,0 mg (Nr. 1). Wie sich das Gefüge des Gesamtphosphatids auf die Einzelglieder teilt (s. o.), ist zwar von höchster Bedeutung, aber bisher weder gelöst noch in vorliegender Form lösbar. Möglich ist jedenfalls eine qualitative Umstimmung der „Lecithinfraktion“.

Eher schon läßt sich das Ergebnis betr. Cholesterin übersehen. Abhängig vom Ernährungszustande, jedenfalls in gewissem Grade, scheint es relativ gering vertreten zu sein. Ester wurden mehrfach in Spuren gefunden. Jedenfalls ist auch diese Komponente mehrdeutig und mit den pathologischen Vorbedingungen schwer in Einklang zu bringen. Esterbefunde nähern sich relativ stark den klinischen Angaben über „Milz +“ an. Es stehen uns außerdem 2 Wa.-+-Fälle zur Verfügung, die solche in (relativ) beträchtlicher Menge führten, was auch für L. überhaupt Geltung hat. Noch unbestimmter ist die Ursächlichkeit des Verhaltens der Fette und Fettsäuren. Immerhin ist Neutralfett relativ häufig erhöht, mit ihm auch die Ge-

samtfettsäure (in Gegenwirkung zu den übrigen Faktoren). Die Relation Fettsäure zu Lecithin ist daher häufig gesteigert.

Das Bild des Lipämiekomplexes in den Erythrocyten ist vielseitig, neigt in Lipoiden zur Senkung, in Fett zur Steigerung, hängt ab vom Allgemeinzustande und besonderen Einzelfaktoren und scheint bei der noch bevorstehenden Spezialarbeit dafür zu sprechen, daß die (nach Protein) hohe Wertigkeit der Erythrocyten durch den Lipämiekomplex anderweitig betrachtet, sich auf gewisse qualitative Umformungen umdeuten lassen dürfte.

So interessant die der näheren Beleuchtung würdigen Abartungen des chemischen Bestandes der Erythrocyten sein mögen, und so sehr auch das durch die alimentären und sonstigen Vorbedingungen allgemein, durch die hydrämische Beschaffenheit im besonderen modifizierte chemische Gefüge des Plasmas sein mag, so sehr haben wir hier Verhältnisse vor uns, die das größte Interesse in Anspruch nehmen, das sich unseres Erachtens weit über die beschreibend-pathochemische Bedeutung für die Möglichkeiten innerhalb des Krankheitsbildes hinaushebt.

Wir haben bei Stauungsikterus gesehen, daß selbst höhere Grade von Fett und Lipoid gemeinhin zu klaren Seris maskiert werden und daß ein solcher Zustand unbeschadet hoher Cholesterinämien geradezu typisch genannt zu werden verdient.

Nach obigen Erläuterungen möchten wir aus den inzwischen gemachten Beobachtungen den extremen Fall nach Zahlen hier beifügen. Es handelt sich um einen schweren katarrhalischen Ikterus nach zirka 12tägigem Bestehen. Er zeigte prompte Diazoprobe und Oxydation in den Graden +++ extrem (Bil. ca. 1100fache Norm), Wa. Ø, keine Hydrämie, Konzentration für Albumin und Globulin o. B. usw. Der Gesamtextrakt war 8,25 g für 100 ccm Plasma. Cholesterin (nur rd. 12% Ester) war zu 48%, Lecithin zu 14%, Neutralfett zu 38% der Gesamtgröße vertreten. Noch nach 20 Tagen war bei langsam verstärktem Ikterus der Extrakt von 5,1 g völlig maskiert; er war relativ cholesterinreicher geworden. Das dürfte ein Extrem sein, das sich gegenüber der diabetischen Lipämie und den toxämischen Formen gewaltig abhebt. Die früher genannten leichten Trübungen sind solche geringsten und geringeren, aber immerhin bei genauer Prüfung der Feststellung zugänglichen Grades. Sie waren sehr selten.

Demgegenüber haben wir bei Bloors Fällen (4) einen mit trübem („cloudy"), einen mit leicht trübem Plasma. Bei Beumer

und Bürger fehlt die Angabe („dikrote Farbe"). Von unseren 17 Fällen sind 10 Fälle (rd. 60%) ausgesprochen trübe, mehrere andere leicht getrübt. Die Trübungen sind homogen, sehr gleichmäßig und nur teilweise entmischbar; nur rd. 20% sind fast klar und blank.

Versuchen wir diese Erscheinung durch Verknüpfung mit anderen zu klären, so war die Frage aufzuwerfen, wie weit es sich um alimentäre Einflüsse handeln könnte. Reiche oder nur mäßige Fettgaben (nach Friedensbegriffen) lagen nicht vor. Auch bei mehrtägiger Fettenthaltung bleiben rd. 40% der Seren stark trübe. Diese Trübung findet sich bis zum gewissen Grade bei Fällen, die Leber + und Milz + sind. Im übrigen zeigten die Seren (Plasmen) die gelegentlich mehr graubraune, porterbraune, oft ins Graue und Bräunlichgelbe spielende Färbung, an der Ht. und Bil., unter Umständen auch „Urobilin" beteiligt sind. Wollte man chemisch etwas über diese Verhältnisse aussagen, die doch zu denen bei Stauungsbilirubinämie im Gegensatz stehen, so ist die Frage nach den fettmaskierenden, cholesterin-seifenlösenden Agenzien zu stellen. Über Cholate wissen wir wenig. Nur so viel steht nach den vorigen Beobachtungen des Verf. fest, daß die Relation Bilirubin (geschätzt quantitativ durch Diazo) und Gesamtcholaten hier zugunsten des ersteren erheblich höher ist in solchen Fällen mit promptem Diazo, das für sich quantitativ gleich hoch ist. An sich ist Cholat sehr gering befunden worden (3 Fälle). Das ist nun nicht lediglich auf die „anhepatische" oder gar „extrahepatische" Bilirubinbildung zu beziehen. Die Lehren des toxämischen Ikterus und die Pathologie der Gallensekretion weisen darauf hin, daß die Relation sehr verschieden, noch dazu durch Fibrin und Albumin weiter modifiziert, ausfallen kann. Immerhin ist die Frage der Cholate in eine Richtung gelenkt, die sie auf relativ geringe Quanten gefaßt macht. Die Maskierung großer Fettmengen zu völliger Lösung ist bei den Cholaten auf Seifen (auch Ca-Salze), Cholesterin, Fett bezogen und wird ferner bei dem Zusammenwirken aller Gallenstoffe erblickt, weniger als in dem einzelnen Faktor. Andere Formen der Maskierung, die ja z. B. von Müller und Reinbach auch in der haltbaren (trüben) Emulsion (unentmischbar auf der Zentrifuge) erblickt wird, sind auf die mutmaßlichen sekundären chemischen Bindungen oder kolloidchemischen Anlagerungen an Proteine usw. bezogen. Nach Müller hätten wir hier häufig die Maskierung in Gestalt haltbarer Emulsion. Diese ist andererseits von blanker Serumbeschaffenheit (Maskierung durch Cholat) so weitgehend schon durch Augenschein trennbar, daß wir in den trüben Seren bei perniziöser Anämie (und weiterer toxämischer Ikterusform) einen direkten Gegensatz zu deren äußeren Beschaffenheit stauungsikterischer Seren fanden. Wie weit in dieser Richtung die übrige chemische Beschaffenheit (Wasser, Salze, Protein, schließlich die Lipoide selbst) eine Rolle spiele, ist noch nicht völlig klar zu beurteilen. So viel glauben wir sagen zu können, daß Wasser und Protein sowie Salze (auch die Reaktion) nicht allein ausschlaggebend sein können, da bei promptem

Diazo cet. par. die Trübung wegfällt. Ob andererseits hohe Lecithin- und Cholesteringehalte (je für sich oder nebeneinander) die Maskierung fördern, scheint naheliegender (s. u.).

Was nun die Gesamtextrakte angeht, so hat man unter Berücksichtigung der verschiedenen Gewinnung (durch Isolierung oder durch Rechnung) folgendes festzustellen.

Beumer und Bürger sprechen von starker Herabsetzung des Eiweiß- und Lipoidgehaltes; Extrakte sind 683,0 und 379,0 mg für 100 ccm. Bloors Zahlen (s. o.) ohne Angabe über Hydrämie sind 670,0, 620,0, 570,0 und 600,0 mg. Diese liegen ausgebreitet zwischen Mittel und Basis der Norm (s. o.), sind also im Beihalt zur Konzentrationsfrage jedenfalls nicht gedrückt. Da nun die Senkung der Lipoide öfter in Frage steht, muß das Neutralfett einspringen (evtl. die Zahl für die Gesamtfettsäuren).

Unsere Werte sprechen an keiner Stelle für Senkung unter die Norm, mit Ausnahme der Fälle 1 und 16, die dem schwersten, lange durch Erschöpfung herausgebildeten Zustande entsprechen. Sie lauten auf 480,0 und 400,0 mg. Viele sind, wie die Tabelle II zeigt, erhöht. Zweifellos übernormal sind 8 Zahlen. Es kommen also in größerer Breite (rd. 66 $^0/_0$ der Fälle) leichte und allenfalls mäßige, von alimentären Einflüssen nicht beherrschte Lipämien vor. In diesen steht das Neutralfett entschieden obenan, von einigen Ausnahmen abgesehen. Lecithin ist überwiegend in geringer Menge vorhanden. Man wird nichts gegen die Tatsache einwenden können, daß die Zahlen für Gesamtcholesterin zumeist relativ niedrig sind. Gleichzeitig herrschen höhere Esterquoten vor. Diese Verhältnisse bieten sich zusammengefaßt in den (stark abgerundeten) Prozentzahlen für den Gesamtextrakt dar. Am augenscheinlichsten sind jedoch die Beziehungen zwischen den jeweils für sich niedrig normierten Lipoiden festgelegt. Sie liegen eng um das Mittel der Norm und weichen entschiedener nur nach unten ab. Jedenfalls sind auch — z. T. von der Seite des relativ hohen Estercholesterins her, und entscheidend von Neutralfett getragen, die Gesamtfettsäuren häufig erhöht, was besonders in der Relation zum Lecithin sich ausprägen kann. Diese ist mit hohen Zahlen in guter Breite vertreten.

Es ist nicht wohl angängig, in textlicher Darbietung noch einmal die allgemeinen Vorbedingungen der Krankheitsfälle gegenüber den Zahlen zu analysieren und damit diesen die rechte Beleuchtung zu verschaffen. Wir müssen aus Gründen

der Raumersparnis auf das einschlägige Tabellenmaterial verweisen. Sicher sind jedoch die eingangs erörterten Einflüsse der hydrämischen Beschaffenheit, der Beteiligung der Leber und besonders der Milz, Verlauf und Krankheitsdauer, Ernährungszustand von weitreichendem Einfluß. Wenn man die Voraussetzung für hohe Esterquoten in bereitstehenden Fettsäuren (s. o.) erblickt, und wenn an sich das Blut durchaus atrophisch sein kann, so wird hier das Bindeglied offensichtlich von der Funktion der Milz hergestellt. Remissionen und Heilungsvorgänge einerseits, Wendungen zum Schlechten andererseits kommen in den Zahlen gut zum Ausdruck. Dabei darf — wohl im gleichen Takte mit der allgemeinen statischen und dynamischen Kräftigung der Lecithinzunahme, das Auftreten von freiem Cholesterin neben dessen Estern gedacht werden. Im einzelnen sind auch darin viele Varianten gegeben, deren Grundzüge jedoch unverkennbar sind. Tatsache ist, daß das Gesamtcholesterin relativ gesenkt ist, aber daß diese Senkung nicht von verestertem, sondern von freiem ausgemacht wird, wie denn auch das erneute Ansteigen von eben letzterem sichtlich beherrscht ist. Niedere Cholesterinzahlen (Denis, Feigl) brauchen nicht charakteristisch für bestimmte Krankheitsformen zu sein, sie sind häufig genug Ausdruck allgemeiner chemischer Erschöpfung der Organbestände. Neben diesen sind nun niedere Esterquoten nach Feigl Zeugen gleicher Umstimmungen. Da hier die — oft wohl durch die konsumierende Erkrankung gegebenen — niederen Cholesterinzahlen von Estern beherrscht sind, müssen eben besondere Einflüsse irgendwelcher Regulatoren des Fetthaushalts eingreifen, um diese (bei Heilung) der allgemeinen Norm wieder zuschreitenden Zustände zu erzeugen.

Sehen wir von den speziellen und auf besondere Vorkommnisse zurückführenden Extremen ab, so läßt sich für das Lipämiegebiet ein allseitig der Charakteristik zugängliches Tatsachenmaterial herausschälen, das in der Lage ist, hier besondere Verhältnisse zu veranschaulichen. Der lipämische Komplex gewinnt in der Relation seiner Einzelgrößen charakteristische Gestalt. Naturgemäß sind neben diesen beschreibenden Ergebnissen weitere, und zwar die eindringlicher auf das pathochemische Wesen zielenden Fragen erst noch zu lösen. Obenan stehen Aufgaben, der King-Medakschen Theorie Stütze oder

Kritik zuzuführen. Es ist möglich, daß unsere bisherigen Materialien durch die alimentären Umstimmungen in der Kriegszeit in besondere Formen gedrängt sind — man denkt ja daran, daß beim Raubbau auf Organfette die ungesättigten Glieder zuerst verschwinden (Feigl). Jedenfalls haben wir die Kingschen und Medakschen Ergebnisse weder graduell noch statistisch in einem belanglichen Ausmaße zu reproduzieren vermocht. Sowohl die Jodzahlen waren nicht in vorausgesetzter Breite im Prinzip hoch oder relativ gesteigert, noch fanden die an Wandlungen des Cholesterins geknüpften Gedankengänge sichere und praktisch genügende Grundlagen. Die Umbildungsvorgänge (nach Medak) wurden also nicht klar ersichtlich. Mit obiger Voraussetzung haben wir gegenüber diesen — nach bisherigem Material nicht genügend sicher erweislichen — Verhältnissen uns bisher beschieden. Für eben diese ist jedoch die Theorie von King und Medak abzulehnen. Zweifellos werden Weiterbildungen unserer Kenntnisse über das Lipämiegebiet den Vorstellungen vom Wesen der perniziösen Anämie — zunächst dem Bestande des Blutes — sehr entgegenkommen. Über Organuntersuchungen ist später zu berichten[1]).

Beobachtungen über den Lipämiekomplex bei hämolytischem Ikterus.

Aufgaben dieser Art beanspruchen angesichts der viel größeren Knappheit des beschreibenden Materials erhöhte Aufmerksamkeit. Auf die gesamte Theorie der zu diesem Begriffe zusammengefaßten Einzelerscheinungen und der ihnen mehr oder

---

[1]) Die Beteiligung der Milz am Fettstoffwechsel ist von Umber und Brugsch durch Ergebnisse über hochwirksame Lipasen in richtige Beleuchtung gesetzt worden. W. H. Schultze hat sich entsprechend geäußert. Beumer und Bürger (l. c.) haben diese Unterlagen in die Diskussion aufgenommen. Die schon genannten Aufgaben von Medak und von King greifen auf chemische Untersuchungen an der Milz über. Eppingers Studien über Splenektomie stehen mit dieser Arbeit in Zusammenhang (bei Medak).

Die Angaben von Oulmonts und Boidins über Parallelität von Hypocholesterinämie und Resistenzverminderung (Ausdeutung im prognostischen Sinne) bei gewissen Ikterusformen verdienen hier genannt zu werden. Die übrigen Auffassungen über Lipämiesteigerungen bei herabgesetzter Oxydationskraft in Anämien sind später su erörtern.

minder nahestehenden Formen kann an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden; es ist auf die Mitteilung von Feigl und Querner zu verweisen. Nur so viel ist nach den Voraussetzungen unserer Arbeiten zu sagen, daß wir gerade hier besondere Anlässe zur Prüfung der Lehren von King und Medak, der Theorie des „anhepatischen" Bilirubins und des Verhaltens von Fett und Lipoid vorfinden.

Beumer und Bürger bringen im Gegensatz zu ihren cholämischen Lipämien den Gesamtextrakt einer Serumprobe von acholurischem Ikterus vor. Die Zahl ist 535,0 mg für 100 ccm. Medak räumt in seiner Arbeit solchen Fällen größeren Raum ein. Er findet aus seinen Zahlen „Bestätigung der experimentellen Befunde Kings", indem nach Splenektomie ausnahmslos die Fett- und Cholesterinwerte erhöht sind. Vor dem Eingriff war für 100 ccm Vollblut (ungeeigneter Boden zur Aufrollung solcher Fragen) Gesamtfett 543,4 mg, freies Cholesterin 49,1 mg, verestertes Cholesterin 63,3 mg. Hiernach und bzw. fanden sich Zahlen, die 647,0 mg, 95,6 mg, 34,6 mg betrugen und die sich wirklich verwerten lassen (cet. par.) nur in der Relation des Cholesterins(Gesamt-) zum Gesamtfett und in seiner Struktur. 2 Fälle von Morbus Banti geben jeweils 601,0 mg bzw. 97,4 mg bzw. 34,8 mg (vorher) und 917,5 mg bzw. 140,0 mg bzw. 73,6 mg (nachher), und im selben Serum 629,6 mg bzw. 95,1 mg bzw. 54,7 mg (vorher) und 795,6 mg bzw. 107,2 mg bzw. 63,3 mg (nachher) mit beträchtlichen Ausschlägen in den gewollten Richtung.

Wir können der speziellen (klinischen) Erörterung, die sich die Veröffentlichung des Gesamtmaterials vorbehalten hat, vorgreifend sagen, daß im Prinzip in kürzerer Frist nach Splenektomie vorübergehend gesteigerte Lipämiezahlen auftreten, deren Gliederung (Cholesterin) auch anders ausfallen kann. Wenn man in gewissem Grade die Auffassung von King und Medak gelten läßt, so ist doch Grund genug vorhanden, auch Bedenken um andere Einflüsse zu Worte kommen zu lassen, die sich mit der Bewertung dieser meist relativ schnell dem Abbau zugänglichen Erscheinungen ins Einvernehmen zu setzen haben. Im Prinzip scheint nach unseren (8) Fällen nur die Cholesterinfraktion nach Kürze und Gliederung eine wirkliche, aber ziemlich bald gemäßigte Änderung durchzumachen.

Weitere Zahlen sind uns nicht bekannt geworden (bzw. vorerst unzugänglich), so daß sowohl die beschreibende Pathochemie wie besonders die Methodologie, auch beide gemeinsam dafür eintreten, daß Material durchgearbeitet und zur Diskussion gestellt werde. Es ist formal im selben Sinne wiedergegeben,

wie das für die Fälle von perniziöser Anämie zutrifft, über die wir oben berichteten. (Tabelle III.) Die analytischen Ergebnisse sind in Tabelle IV, wie bisher aus (wie speziell in vorliegender Arbeit) Tabelle II orientiert, niedergelegt.

Tabelle III.

II. Material über hämolytischen Ikterus.

1. Acholurischer Ikterus mit den typischen klinischen Verhältnissen, ohne abliegende Komplikationen. Wa. ∅.

2. und 3. Desgl. Uns zugesandtes Material ohne therapeutische Beeinflussung. Wa. ∅.

4. und 5. Je ein Fall von chronischem hämolytischem Ikterus. Beide ohne Behandlung in typischen Stadien. Wa. ∅ (musartiges Material).

6. Ktm., 19, ♀. Leber etwas +, Milz stark +. Behandlung (später) As, Cholesterin, Strahlen. Ikterus +. 73 % Hb., 4 Mill. Erythroc., 6000 Leukoc. (28 % Lymphoc.), Res. (NaCl) H. 1 – 0,66. Wa. ∅, gesenkte Toleranz für Lävulose. Urologie o. B. Blut und Serum, keine Hydrämie, BZ. 0,14, R.-N. 40,0 mg, mit im Prinzip normaler Struktur. O_2Hb. +, Ht. Spur, Bil. +, Diazo + spät. Erfolge der Strahlenbehandlung s. später.

7. WuM, 25, ♂. Leber ∅, Milz ++, Hb. 70 %, 3,8 Mill. Erythroc., 5600 Leukoc., (36 % Lymphoc.), R.-N. 56, org. BZ. 0,11, Ikt. +, Toleranz für Kohlenhydrate leicht gesenkt. Diazo + spät, Urologie Urobilin ++, Res. H. 1 0,63.

8. Schw., 21, ♂. Leber ∅, Milz ++, Hb. 76 %, 3,7 Mill. Erythroc., 14600 Leukoc. (56 % Lymphoc.), Ikt. ++, R. N. 27,0 mg, B. 0,14 %, Ht. +, Diazo + spät, Kohlenhydrattoleranz fast o. B., später As-Behandlung, Kakodyl, dann Leber ++, Diazo 2phasig, leichte Hydrämie, schwere Cholämie.

9. Bor., 18, ♂. Chronischer Ikterus seit 8. Lebensjahre. Meist Ikterus, nie Leberschmerzen, keine schweren Störungen des Allgemeinbefindens. Milz o. B., Res. H. 1 0,05, Hb. 95 %, 4,2 Mill. Erythroc., R.-N. 33,0 mg, Wa. ∅.
   a) Urologie Urobilin ++, Serum Bil. ++, Diazo ++ spät.
   b) R.-N. 50,0 mg mit bes. Struktur, Hb. 90 %, 6,3 Mill. Erythroc., 8000 Leukoc., Diazo spät, Res. gesenkt.
   c) mit leichter bis mäßiger Leberbeteiligung (Kohlenhydrattoleranz gesenkt), Diazo 2phasisch.
   d) späterer typischer Termin für hämol. Ikt. (s. o.)

10. Xa, 43, ♀. Chronischer familiärer Ikterus, eindeutig hämolyt. Natur. Res. gesenkt, R.-N. 32,0 mg, BZ. 0,15.
   a) **Kohlenhydrattoleranz gesenkt, Diazo ++ spät, Wa. ∅, Hautikterus, Hydrämie.**

b) nach As-Therapie.

11. Xb, 47, ♀. Typischer Fall ohne Therapie, leichte Hydrämie.

12. WaO, 53, ♂. Leber +, Lues +, Milz +, Hb. 95%, 3,1 Mill. Leukoc., R.-N. 43,0 mg, B. 0,46%, Toleranz gesenkt, R. (NaCl).
a) mit Salvarsan, H. 1 0,69%, Urologie Urobilin ++, Serum-Diazo + spät, leichte Hydrämie.

Wie man sieht, ist das gesamte Material der Literatur unseres Wissens bisher in zwei Fällen mit ausgleichbaren Zahlen niedergelegt. Bestimmte, besonders klinische Verknüpfungen fehlen. Details der Cholesterinfrage kommen in der Spezialarbeit zur Erörterung.

Was die Verhältnisse der Erythrocyten angeht, so sind wir bisher nicht in der Lage, gegenüber den nicht breiten Normalien beweiskräftige Abweichungen im Lipämiegebiet festzustellen. Mehrfach war indes „Lecithin“ mindestens hochnormal. Cholesterinester waren in geringer Menge zweimal vorhanden. Gesamtcholesterin war sicher allgemein normal. Neutralfett kann allgemein als hochnormal gelten. Der Wassergehalt überschreitet im allgemeinen nicht, zweimal jedoch die Norm, so daß ein erhöhter Eiweißbestand, wie gelegentlich bei perniziöser Anämie, bisher in Abrede zu stellen ist. Hämatinämie leichten Grades und „anhepatisches“ Bilirubin mäßiger bis ziemlich hoher Ausmaße sind die Regel. Allgemeine Hydrämien mit Senkungen des Trockengehaltes und Eiweißgehaltes im Plasma haben wir nur einmal gesehen.

Fassen wir die tabellarisch gegebenen Resultate über das Lipämiegebiet des Plasmas zusammen — dort scheint nach diesen Ermittlungen das Hauptfeld sichtbarer Umstimmungen zu liegen, ohne daß die bisher durchaus nicht genügend gewürdigten, ja nicht einmal gänzlich diskutierten Verhältnisse im Vollblute darum zurückzusetzen sind — so dürfen folgende Auffassungen abgeleitet werden. Ohne hydrämische Interferenz kommen nicht zu selten hochnormale, daher wohl auch in größeren Reihen immerhin beachtliche Erhöhungen des Lipämie-

Tabelle IV.

Fette und Lipoide im Blute des Menschen bei hämolytischem Ikterus.

Material orientiert nach Aufstellung klinischer Daten in Tabelle III. Lecithin, Cholesterin frei bzw. in Esterbindung, Neutralfett, Gesamtfett-

säuren, Gesamtätherextrakt. Beziehungen der Komponenten des Gesamtextraktes untereinander und als Teilfraktionen des letzteren. Nebenangaben, Methoden und Rechnungen nach W. R. Bloor.

Zahlen in Milligramm bzw. in Gramm (Gesamtextrakt) für 100 ccm Plasma. Nüchternwerte bei (eingeschränkter) Fettstandarddiät.

Laufende Nr. Person Serum	Plasma (Nebenangabe)	Gesamtfettsäuren mg	Lecithin mg	Cholest. Gesamt mg	Cholest. Ester in Proz. v. Ges.-Chol.	Neutralfett mg	Gesamtfettsäure / Lecithin	Lecithin / Cholesterin	Gesamtextrakt g
1. AJa	klar, o. B. Ht. Spur, Diazo + spät	540	270	220	73	200	2,0	1,2	0,85
2. AJb	klar, o. B. Diazo + spät	480	200	200	66	252	2,4	1,0	0,74
3. AJc	klar, o. B. Diazo + spät	350	120	120	70	220	2,9	1,0	0,51
4. HJx	Ht. +, Diazo + spät, leicht trübe, o. B.	675	300	220	80	350	2,2	1,4	1,0
5. HJy	desgl.	800	280	240	70	500	2,9	1,2	1,15
6. Ka nach As	o. B., Diazo + spät, leicht trübe . . .	525	250	220	70	252	2,1	1,1	0,83
		470	310	280	40	180	1,8	1,1	0,75
7. WuM Besserung	trübe, Diazo +, Ht. + spät	690	300	220	80	370	2,3	1,4	1,02
	Diazo schwach + spät, klar	445	270	200	36	210	1,5	1,4	0,75
8. Scho gebessert Cholämie	leichte Hydr., Diazo+spät, trübe . . .	570	270	120	80	325	2,1	2,1	0,79
	Diazo schwach +, klar . .	490	280	270	40	220	1,7	1,1	0,85
Cholämie	Bil. +++, klar hydrämisch, Diazo 2phas.	980	710	620	70	180	1,53	1,1	2,01
9. Bor a)	fast klar, Diazo + spät, keine Hydrämie .	475	210	180	66	252	2,3	1,2	0,73
b)	s. Tab. III . .	510	270	250	70	200	1,9	1,1	0,85
c)	s. Tab. III . .	760	300	620	45	360	2,53	0,48	1,49
d)	s. Tab. III . .	440	280	220	58	220	2,2	0,9	0,73
10. Xa a)	s. Tab. III . .	395	170	180	66	200	2,2	0,95	0,64
As-Therapie b)	s. Tab. III . .	410	200	300	45	180	2,0	0,7	0,78
11. Xb	s. Tab. III, Diazo + spät .	305	150	180	45	168	2,0	0,8	0,86
12[1]) WoO a)	s. Tab. III . .	635	330	310	80	245	1,9	1,0	0,105
b)		445	250	310	30	210	1,8	0,7	1,00

[1]) Läßt bis zum gewissen Grade Abweichungen erkennen, die auf die alte Lues weisen.

komplexes (nach dem Gesamtextrakt beurteilt) vor. Leichte und mäßige Hydrämien (einmal) senken den Spiegel in toto. Noch normale Zahlen herrschen vor. Betrachten wir den Aufbau des lipämischen Komplexes in ausgesprochenen bis typischen, therapeutisch nicht beeinflußten Stadien der (an sich oft wellenförmige Kurven bietenden) Erkrankung, so findet man Lecithin und Gesamtcholesterin zumeist in niederen (relativ und absolut) Werten vertreten. Ihre Relation verkettet sie zu Bildern, die der mittleren Form durchaus angepaßt sind und bleiben. Höhere Esterprozente, zum mindesten in der oberen Grenzlage der Norm, sind ziemlich verbreitet. Sichtlich das Hauptkontingent stellt die als Neutralfett berechnete und eingesetzte Restgröße aus dem Bestande der Gesamtfettsäure dar. Zahlen der mittleren und niederen Norm sind geradezu selten, leichte Erhöhungen häufiger. Das kommt am besten zum Ausdruck in der Verrechnung der Gesamtfettsäuren zum Lecithin [hier durch entgegengesetzt gerichtete, daher typisierende Tendenzen auf beiden Seiten gefördert (s. u.)], obschon in den Gesamtfettsäuren noch die heterologen des Cholesterinesters Aufnahme finden. Die Relation ist allermeist an und um 2,0 und oft noch darüber, jedenfalls einseitig orientiert unter Vermeidung der niederen Norm. Besser zeigen die (Tabelle II) errechneten, hier übergangenen Prozentberechnungen des Neutralfettes (Cholesterin, Lecithin) im Gesamtextrakt das Wesen dieser Erscheinung an. Auch bei hydrämischen Vorbedingungen lassen sich diese Beziehungen nachweisen. Im übrigen ist es naturgemäß bei den heute noch nicht sehr weit gespannten Kenntnissen der Normalien (vgl. Kritik des Cholesterins) und den besonderen alimentären Umstimmungen der Kriegszeit auch unter weitgehender Vereinheitlichung und Festlegung der Ernährungsformen und der Lebensbedingungen an sich schwierig, sobald man sich den physiologischen Breiten nähert, mit den Befunden (für sich genommen) zu bestimmten Abmachungen vorzudringen. Das trifft besonders das an sich so umstrittene Gesamtcholesterin, weniger (s. o.) das Neutralfett. Die Normalbreiten sind an sich groß. Zum beträchtlichen Fortschritt führen, wie beschrieben die (allerdings jeweils methodisch weitgehend definierten) Relationen. Heilung, Therapie (As, Strahlen, alimentäre Senkung) und Splenektomie zeigen zum Teil wichtige und bestimmt nach-

weisbare, selbst typische Wandlungen der Beziehungen im Komplexe an. Gesamtcholesterin steigt, die Esterquote fällt durch Zufluß freier Anteile, As erhöht Lecithin, Strahlen äußern sich in beschleunigter Lecithinbildung und Umformung, die der Rest-P (s. später) zum gewissen Grade anschaulich zu machen gestattet. Jedenfalls wird das Gefüge des Gesamtkomplexes nach den maßgebenden Relationen (s. o.) ein anderes, die Individuen orientieren sich neu. Die Medak-Kingsche Formulierung der (durch Splenektomie) charakteristisch abgewandelten (zunächst hohen) Jodzahlen ist uns nicht gelungen, befriedigend zu reproduzieren. Am nächsten kämen nur rd. 20% der Beobachtungen (s. o.).

Fälle von Polycythämie werden aus gewissen Gründen mit anderen Bluterkrankungen gemeinsam, die eigentlichen Blutintoxikationen für sich abgehandelt werden. Morbus Banti, nach heutiger Gesamtlage dieses Begriffes vermutlich keine Einheit mehr im nosologischen Systeme, ist von H. Luce seit Jahren an vielen Fällen mit einschlägigen ärztlichen und pathochemischen Bemühungen eingehend studiert worden. Das Material bleibt für eine klinische Durcharbeitung von seiten dieses Forschers reserviert.

Fassen wir die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zusammen, so ist bei allen Schwierigkeiten der vorbestimmenden Unterlagen (Analyse, chemisches Blutbild, biochemische Verkettung) doch über folgende Haupttatsachen vermutlich nur eine Meinung möglich und diese daher einstweilen formulierbar. Es scheint ziemlich sicher, daß Umstimmungen des lipämischen Komplexes im Blute, wenn sie zum großen Teile von den besonderen Faktoren der Milzfunktion beeinflußt werden, ihre eigene und unter Umständen typische Gestalt gewinnen. Einzelheiten haben wir in die Besprechung über die Befunde bereits eingerückt. Diese (charakteristischen) Abwandlungen enthüllen sich als besonderer Art, wenn man die Abläufe (s. o.) ins Auge faßt. Möglicherweise tritt speziell an die Relation Gesamtfettsäure zu Lecithin die Möglichkeit hohen diagnostischen, prognostischen und kritischen Wertes heran.

Die Materialien zur vorliegenden Untersuchung entstammen zum größten Teile der eigenen Anstalt, für ihre Zuweisung und sonstige Vermittlung ist Verf. besonders Herrn Prof. Dr. Luce,

Oberarzt, und Herrn Dr. E. Querner, Sekundärarzt, zu Dank verpflichtet. Fernere (bes. extreme) Fälle sind nachzutragen.

Literatur.

H. Beumer und M. Bürger, Chemie des Blutes in Krankheiten III. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **18**, 1918.

M. Bürger und H. Beumer, Phosphatide der Erythrocytenstromata. Diese Zeitschr. **56**, 446, 1913.

Joh. Feigl, Über Lipämie, I bis V. Diese Zeitschr. **1918** und **1919**.

Derselbe, ebenda (Nr. II u. a.) weitere Literatur, besonders die Arbeiten von W. R. Bloor.

Derselbe, Spezielle Mitteilungen über Lipämie III (Cholämie). Diese Zeitschr. **1**. 90, 1918.

Derselbe, Über physiologische Lecithinämie. Diese Zeitschr. **90**, 381, 1918 (daselbst Literatur).

Derselbe und R. Deussing, Über Hämatinämie II. Diese Zeitschr. **1918** (daselbst Literatur).

Derselbe und E. Querner, Über pathologische Bilirubinämie; daselbst alle einschl. Literatur. Arch. f. klin. Med.

Derselbe, Phosphatide im Blutserum VII, spez. Lecithinfrage (Zahlen daselbst). Diese Zeitschr. **1918**.

Derselbe und J. Neumann, Cholesterinämie. Im Druck.

E. Medak, Chemie des Blutes bei anämischen Krankheitsfällen. Diese Zeitschr. **59**, 419, 1914. Daselbst weitere Literatur, spez. King.

M. Bürger und H. Beumer, Zur Lipoidchemie des Blutes I. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 3, **1913**. Über diese spez. die Esterverteilung gegenüber dem Gesamtcholesterin (aber auch das Lecithin) bedenkende Mitteilung ist a. a. O. noch zu sprechen.

In seinen Lipämiestudien hat I. Bang über Cholesterinämie berichtet, diese Zeitschr. 1918, **91**, 122. Ich darf annehmen, daß die Angaben Bangs, die sich mit der ikterischen Cholesterinämie beschäftigen, ohne Kenntnis meiner umfangreichen Spezialarbeit (l. c. 1918, **90**, 1) entstanden sind. Die von Bang beschriebene Maskierung ist dort (und vorstehend) diskutiert. Demnach trifft die Bemerkung, die ikterische Cholesterinämie sei nur in einzelnen Fällen studiert worden, nicht zu, da Verf. außerdem den Gesamtkomplex beschrieben hat. Zweifellos ist es ein lohnendes Thema, besonders nachdem Bang seine neuen Methoden eingeführt hat.

Beitrag zur biologischen Kenntnis des Ödemgiftes.

Von

Otto Wuth.

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie
zu Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 19. November 1918.)

Auf die zahlreichen Fragestellungen der Bakteriologie des Gasödems näher einzugehen, liegt nicht im Rahmen dieser Arbeit. Das Ödemgift wurde von Ficker aus Kulturen des Ödemtyps gewonnen, der in zahlreichen malignen Fällen von Gasödem von ihm isoliert worden war. Dieser Typ ist durch Pfeiffer und Bessau sowie Ficker hinlänglich genau definiert und beschrieben worden. Die Gifte, mit denen ich die nachfolgenden Untersuchungen vornahm, wurden in derselben Weise, wie sie Ficker mitgeteilt hat, aus Kulturen in neutraler Bouillon mit 2 $^0/_0$ Traubenzucker gewonnen, unter Vorsorge der Erhaltung der notwendigen Alkalescenz während des Wachstums sowie der anaeroben Züchtungsbedingungen. Das Optimum der Giftproduktion liegt zwischen dem 9. und 11. Tage, nachweisbar ist das Gift jedoch schon nach 24 Stunden. Zur Erzielung der Keimfreiheit wurde das Gift durch Membranfilter der Fabrik de Haen filtriert. Die Aufbewahrung erfolgte unter Toluol, wobei es relativ gut haltbar ist. — Wie fast alle Toxine erleidet es eine Abschwächung durch Luft, Licht und Altern. Durch Erhitzen auf 70^0 während 20 Minuten wird es zerstört. Weitere Arbeiten über das Gift sind zur Zeit im Gange. Genauere Angaben über die bisherigen Ergebnisse finden sich in der Arbeit Fickers.

Wohl das Auffallendste an der Wirkung dieses Ödemgiftes

ist die rasche Wirkung desselben, die in ihrer Schroffheit an gewisse thermostabile Gifte erinnert. Während solche jedoch kaum als echte Toxine angesprochen werden können, zeigt das Ödemgift alle geforderten Charakteristica eines solchen: Wirksamkeit in geringen Dosen, Thermolabilität, Antigencharakter. Je nach der Höhe der injizierten Menge tritt die Wirkung sehr rasch, bei Mäusen innerhalb weniger Minuten, ein und führt rapide zum Tode. Wenn wir nun an dem Ehrlichschen Satz Corpora non agunt nisi fixata festhalten, so müssen wir für das Ödemgift annehmen, daß es die Fähigkeit besitzt, ungemein rasch an lebenswichtigen Zellen bzw. Zellkomplexen fixiert zu werden. Nun braucht aber bekanntermaßen die Giftbindung mit der Giftwirkung zeitlich nicht zusammenzufallen, bei den meisten Toxinen ist dies sogar nicht der Fall. Aus den Arbeiten von Dönitz geht hervor, daß die Giftbindung mit dem Augenblick beginnt, wo das Gift im Blutstrom auftritt und bei genügend hohen Dosen die Bindung der tödlichen Dosis an die empfänglichen Organe in wenigen Minuten vollzogen ist. Wir haben also zwei Möglichkeiten vor uns: erstens ist es denkbar, daß die toxophore Gruppe ihre Wirksamkeit sehr rasch entfaltet, oder es könnte zweitens durch die Fixation des Giftes als solche allein eine derartige Störung im Leben der Zelle hervorgerufen werden, daß die Funktionsstörung sofort eintritt. Der ganze Symptomenkomplex bei dem ödemvergifteten Tier — kurze Inkubation, allgemeine Schlappheit des Tieres, Atemnot, Schwäche der hinteren Extremitäten, rascher Tod — macht den Eindruck einer zentralen Vergiftung. Es liegt nahe, an dieser Stelle auf gewisse Ähnlichkeiten mit zwei anderen Giften hinzuweisen, dem Tetanustoxin und dem Botulismusgift. Alle diese Gifte werden von Erregern produziert, die Anaeroben sind und im Darme vorkommen!

Ehrlichs bahnbrechende Farbstoffstudien und Meyer und Overtons grundlegende Arbeiten haben den Zusammenhang zwischen Neurotropie und Lipotropie unserem Verständnisse erschlossen und drängen uns dazu, bei jedem Gift, das sich durch besondere Affinität zum Nervensystem auszeichnet, nach seinen Beziehungen zu Lipoiden zu forschen. Es lag also nahe, Versuche über die Wirkung des Giftes auf andere lipoidhaltige Zellen anzustellen, und da kamen zunächst

die roten Blutkörperchen in Betracht. Und in der Tat wirkt, wie Ficker 1917 gezeigt hat, das Ödemgift hämolytisch.

Seit den Arbeiten von Madsen sowie Neißer und Wechsberg wissen wir, daß der verschiedene Grad der Hämolyse außer von der chemisch-physikalischen Natur des Mediums, der Menge des zugefügten Toxins, der Menge der Erythrocyten, der Konzentration, Temperatur und Einwirkungsdauer, auch von der Resistenz der Erythrocyten abhängig ist. Es gibt im Blut sehr resistente und sehr wenig resistente Blutkörperchen. Die große Masse gehört zu den relativ resistenten, die nur durch die fast komplettlösende Dosis gelöst werden, während in jedem Blut auch empfindlichere Blutkörperchen vorhanden sind, die selbst bei ganz geringen Giftdosen noch gelöst werden. Für manche Erythrocyten kommt nach Madsen auch gewissermaßen eine Inkubationszeit in Betracht, so daß diese erst beim Sedimentieren der Lyse anheimfallen, und das Auftreten einer rotgefärbten Zone über dem Sediment verursachen. Da das quantitative Verhältnis dieser verschieden empfindlichen Zellen in jedem Blut verschieden ist, mußten alle Versuche, die miteinander verglichen werden sollten, mit demselben Blute ausgeführt werden. Ich habe deshalb zu jedem größeren Versuch ein Kaninchen entblutet, da sich durch zahlreiche Versuche erwiesen hat, daß das Blut im eigenen Serum ca. 4 Tage lang gut haltbar ist; verwendet wurde es nur 2 bis 3 Tage nach der Entnahme. Natürlich wurden immer die nötigen Kontrollen angesetzt, und fast zu jedem größeren Versuche einige Vorversuche. Die Blutkörperchen wurden vor der Herstellung der Aufschwemmung 5- bis 6mal gewaschen, um jede Spur von Serum zu entfernen, das, wie wir später sehen werden, die Versuche stören würde.

Den Zeitverhältnissen mußte insofern Rechnung getragen werden, als das Gift nicht an so vielen Blutarten ausgeprobt werden konnte, als wünschenswert gewesen wäre. Derselbe Grund hielt mich von der Auswertung des hämolytischen Effektes nach der colorimetrischen Methode ab.

Das Hämotoxin wurde folgenden Blutarten gegenüber wirksam befunden: Hammel, Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen.

Tabelle I.

Mal. Ödemgift Stamm VII ccm	Hammelblut 5 % 1 ccm	Meerschweinchenblut 5 % 1 ccm	Kaninchenblut 5 % 1 ccm	Pferdeblut 5 % 1 ccm
0,50	kpl.	kpl.	kpl.	mäßig
0,25	sehr stark	kpl.	kpl.	wenig
0,10	stark	kpl.	sehr stark	Spur
0,05	mäßig	kpl.	stark	0
0,025	wenig	stark	mäßig	0
0,01	Spur	mäßig	Spur	0
0,001	0	0	0	0

Tabelle II.

Toxin-Mengen ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Mal. Ödem Toxin Stamm I	Mal. Ödem Toxin Stamm II	Mal. Ödem Toxin Stamm IV	Mal. Ödem Toxin Stamm V	Mal. Ödem Toxin Stamm VII
1,0	0,5	Spürch.-Spur	wenig	0-Spur	wenig	mäßig
0,8	0,5	Spur	stark	Spur-wenig	mäßig	mäßig
0,6	0,5	Spur	fast kpl.	stark	fast kpl.	sehr stark
0,4	0,5	Spur	kpl.	kpl.	kpl.	kpl.
0,2	0,5	Spürchen	fast kpl.-kpl.	kpl.	kpl.	kpl.
0,1	0,5	Spürchen	stark	kpl.	kpl.	stark
0,08	0,5	0	mäßig	kpl.	sehr stark	wenig
0,06	0,5	0	wenig	sehr stark	mäßig	wenig
0,04	0,5	0	Spur	wenig	wenig	Spur
0,02	0,5	0	Spürchen	Spur	Spur	Spürchen
0,007	0,5	0	0	Spürchen	0	0
0,002	0,5	0	0	0	0	0
		0,2 töten 18 g Maus nicht	0,2 töten 18 g Maus in 69 Min.	0,2 töten 19 g Maus in 40 Min.	0,2 töten 16 g Maus in 43 Min.	0,2 töten 16 g Maus in 5 Min.

Tabelle I zeigt, daß die verschiedenen Blutarten sehr verschiedene Empfindlichkeit gegenüber dem Gift zeigen, jedoch ist unter den untersuchten keine, die vollständig unempfindlich wäre. Da das Kaninchenblut die Vorteile guter Empfindlichkeit und leichter Gewinnung vereinigte, wurde in allen folgenden Versuchen Kaninchenblut in 5 %iger Aufschwemmung benützt. Versuch II zeigt, wie sehr die Toxine in ihrem hämolytischen Vermögen divergieren. An den unteren Enden der Reihen sind die Toxizitätsverhältnisse notiert.

Nachdem solchermaßen die Wirkung des Giftes auch auf andere Zellen, nämlich die Erythrocyten, erwiesen war, ging ich zur Analyse der Giftwirkung über, d. h. ich versuchte, den Angriffspunkt des Giftes festzustellen; im Tierversuch hatten wir aus dem Krankheitsbild, das die Mäuse darboten, eine Wirkung auf das Nervensystem angenommen; stimmte dies, so mußte das Toxin auch die Lipoidaffinität besitzen, die sich ja bis zu einem gewissen Grade schon durch die hämolytische Fähigkeit dokumentierte, und der Angriffspunkt in den Erythrocyten war höchst wahrscheinlich in deren Lipoiden zu suchen. Hier kommen in erster Linie Cholestearin und Lecithin in Betracht, und da war es von Interesse, festzustellen, zu welchem von beiden Komponenten das Gift in Beziehung tritt.

Es galt also, in vitro die Probe zu machen, ob Cholestearin oder Lecithin als Antikörper wirken würde. Cholestearin zeigte sich nun zu unserer Überraschung vollkommen wirkungslos. Hingegen zeigte auffallenderweise das Lecithin eine ganz

ausgesprochene hemmende Wirkung auf die Ödemtoxinhämolyse, und zwar zeigte von allen untersuchten Lipoiden nur das Lecithin diese deutlich ausgesprochene Wirkung. Bevor wir zu den Versuchen übergehen, dürften einige Worte über das verwendete Lecithin und die Suspensionen am Platze sein.

Die verwendeten Präparate waren folgende: Lecithin Agfa, Lecithin Blattmann, Lecitol Riedel, Lecithin Merck, Lecithin der Deutschen Lecithinwerke, Lecithin der Chemischen Fabrik Viktoria, Lecithin der Chemischen Fabrik de Haen. Sämtliche Lecithine waren acetonfällbar. Nachdem festgestellt war, daß alle diese Lecithine den gleichen Effekt hatten, wurde zu den Versuchen Lecithin Agfa verwendet. Für die Herstellung von Suspensionen kommen folgende Methoden in Betracht: 1. Zerreiben und Aufnehmen mit 0,85 % Kochsalzlösung; bei manchen Präparaten gelingt jedoch die Herstellung einer genügend stabilen Suspension auf diese Weise nicht. 2. Lösung in Äther, tropfenweise Überführung in destilliertes Wasser, Verjagung des Äthers im Luftstrom, Kochsalzzusatz (nach Porges). 3. Lösung in Methylalkohol, der weniger hämolytisch wirkt als Äthylalkohol, und in den in Betracht kommenden Dosen gar nicht, und Verdünnung der Lösung zum Gebrauch mit Kochsalzlösung. Da diese Methode sowohl quantitativ am meisten entsprach und die Verdünnungen entsprechend homogen und stabil ausfielen, wurde nach dieser Methode gearbeitet. Die zahlreichen notwendigen Vorversuche sowie die jeweils angesetzten Kontrollen werden der Selbstverständlichkeit halber nicht erwähnt werden.

Tabelle III.

Mal. Ödem Toxin VII ccm	Lecithin Agfa 1 % Methylalk. ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Grad der Lyse
0,025	0,5	1,0	kpl., verfärbt
0,025	0,25	1,0	"
0,025	0,1	1,0	sehr stark
0,025	0,05	1,0	wenig
0,025	0,025	1,0	0
0,025	0,01	1,0	0
0,025	0,005	1,0	wenig
0,025	0,0025	1,0	"
0,025	0,001	1,0	"
—	0,5	1,0	kpl., verfärbt
—	0,25	1,0	"
—	0,1	1,0	sehr stark
—	0,05	1,0	wenig
—	0,025	1,0	0
—	0,01	1,0	0
—	0,005	1,0	0
—	0,0025	1,0	0
—	0,001	1,0	0
0,025	—	1,0	wenig

Tabelle IV.

Mal. Ödem Toxin VII ccm	Lecithin Agfa 1 % Methylalk. ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Grad der Lyse
0,1	0,1	1,0	wenig
0,1	0,05	1,0	Spur
0,1	0,025	1,0	0
0,1	0,01	1,0	wenig
0,1	0,005	1,0	sehr stark
0,1	0,0025	1,0	„
0,1	0,001	1,0	fast kpl.
0,1	—	1,0	kpl.

Tabelle V.

Mal. Ödem Toxin VII 1:4 m. NaCl ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Lecithin Agfa 1 % in Methylalkohol 0,02 ccm	Lecithin Agfa 1 % in Methylalkohol 0,01 ccm	Gift allein ohne Lecithin löst
0,80	0,5	Spur	Spürchen	mäßig stark
0,75	0,5	„	„	mäßig
0,70	0,5	„	„	„
0,65	0,5	„	„	„
0,60	0,5	„	„	wenig
0,55	0,5	„	„	„
0,50	0,5	„	„	„
0,45	0,5	„	„	Spur
0,40	0,5	„	„	„
0,35	0,5	„	„	„
0,30	0,5	„	„	„
—	0,5	Spürchen	minim. Spürchen	

Tabelle VI.

Lecithin Agfa 1 % in Methylalk. ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Mal. Ödem Toxin II 0,2 ccm	Mal. Ödem Toxin IV 0,1 ccm	Mal. Ödem Toxin V 0,1 ccm	Mal. Ödem Toxin VII 0,2 ccm
0,04	0,5	Spürchen	Spürchen	Spürchen	Spürchen
0,03	0,5	„	„	„	„
0,02	0,5	„	„	„	„
0,01	0,5	„	„	„	„
0,009	0,5	„	„	„	„
0,008	0,5	„	„	„	„
0,006	0,5	„	„	„	„
0,03	0,5	—	—	—	Spürchen
0,02	0,5	—	—	—	0-Spürchen
0,01	0,5	—	—	—	0
0,009	0,5	—	—	—	0
—	0,5	wenig	—	—	—
—	0,5	—	wenig	—	—
—	0,5	—	—	wenig	—
—	0,5	—	—	—	wenig

Tabelle VII.

Stearins. Natrium 0,01 % in Aq. dest. ccm	Mal. Ödem Toxin VII ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Grad der Lyse	Bemerkungen
0,2	0,05	0,5	wenig	Stearins. Natrium in vorstehenden Dosen allein löst nicht. Toxin 0,05 löst 0,5 Blut „wenig".
0,1	0,05	0,5	"	
0,05	0,05	0,5	"	
0,03	0,05	0,5	"	
0,01	0,05	0,5	"	
0,005	0,05	0,5	"	
0,004	0,05	0,5	"	
0,003	0,05	0,5	"	
0,002	0,05	0,5	"	
0,001	0,05	0,5	"	

Tabelle VIII.

Oleins. Natrium 0,01 % in Aq. dest. ccm	Mal. Ödem Toxin VII ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Grad der Lyse	Bemerkungen
0,2	0,05	0,5	Spur	Oleins. Natrium in vorstehenden Dosen allein löst nicht. Toxin 0,05 löst 0,5 Blut „wenig".
0,1	0,05	0,5	"	
0,05	0,05	0,5	"	
0,03	0,05	0,5	wenig	
0,01	0,05	0,5	"	
0,005	0,05	0,5	"	
0,004	0,05	0,5	"	
0,003	0,05	0,5	"	
0,002	0,05	0,5	"	
0,001	0,05	0,5	g	

Aus den Versuchen 3 bis 6 erhellt die hemmende Wirkung des Lecithins auf die Ödemtoxinhämolyse. Glas 1 bis 4 und 10 bis 13 in Versuch 3 zeigen die lytische Wirkung des Lecithins allein. Man beachtet, daß die Hemmung bei einer gewissen Dosis (0,02 bis 0,01 der 1%igen Lösung) am stärksten in Erscheinung tritt; wir haben hier das Phänomen des Reaktionsoptimums vor uns, ein Zeichen, daß wir es mit Kolloidreaktionen zu tun haben. So sehen wir auch, daß in Versuch 5 die kleinere Dosis eine stärkere Wirkung entfaltet. Es ist dies wohl auch der Grund dafür, daß wir mit Lecithin in Substanz bei Anwendung der Methodik von Landsteiner und Botteri mit unserem Gift keine Resultate erhielten; ebensowenig wie mit Lecithinmembran nach Pascucci. Es ist eben, was auch Porges betont, die Reaktionsfähigkeit der Lipoide an die Zustandsform einer kolloidalen Lösung oder Suspen-

sion geknüpft. Und eine Methode aufzufinden, um nach der Entgiftung aus einer solchen Suspension das Lecithin vollständig zu entfernen, ohne Agenzien zuzusetzen, die an sich schon das Toxin schädigen, gelang uns nicht. Die Wirkungslosigkeit von stearinsaurem Natrium zeigt Versuch 7, die von oleinsaurem Natrium Tabelle VIII; Tabelle IX zeigt die Wirkungslosigkeit des Cholestearins, Tabelle X im Gegensatz hierzu eine geringe Beeinflussung durch Natrium glycocholicum.

Tabelle IX.

Cholestearin 0,2% in Aq. dest. ccm	Mal. Ödem Toxin VII ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Grad der Lyse	Bemerkungen
0,5	0,15	0,5	kpl.	Cholestearin in vorstehenden Dosen löst 0,5 Blut nicht. 0,15 Toxin löst 0,5 Blut komplett.
0,4	0,15	0,5	„	
0,3	0,15	0,5	„	
0,2	0,15	0,5	„	
0,1	0,15	0,5	„	
0,08	0,15	0,5	„	
0,06	0,15	0,5	„	
0,04	0,15	0,5	„	
0,02	0,15	0,5	„	
0,008	0,15	0,5	„	
0,005	0,15	0,5	„	
0,001	0,15	0,5	„	

Tabelle X.

Mal. Ödem Toxin ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Gift + Blut allein löst	Mit Natrium glycocholicum 1% 0,02 ccm	Bemerkungen
0,8	0,5	stark	Spur	Natrium glycocholic. allein löst in vorstehender Dosis nicht.
0,75	0,5	wenig	Spürchen	
0,7	0,5	„	„	
0,65	0,5	„	„	
0,6	0,5	„	„	
0,55	0,5	Spur	„	
0,5	0,5	„	„	
0,45	0,5	„	0	
0,4	0,5	„	0	
0,35	0,5	„	0	
0,3	0,5	„	0	

Wir haben also in unserem Ödemgift eine Substanz von deutlich ausgesprochener Affinität zum Lecithin, und es war wichtig, festzustellen, ob diese Substanz ein einfacher Körper,

ein Glycosid wie Saponin oder ein echtes Toxin sei. Als Beweis für die Toxinnatur dient erstens die Thermolabilität der Substanz. Tabelle XI zeigt, daß das Toxin durch Erwärmen im Wasserbad $^1/_2$ Stunde auf 45^0 schon erheblich geschädigt wird; zwischen 46 und 50^0 wird es völlig zerstört. Zweitens hat das Lysin Antigencharakter. Die Herstellung eines Antihämolysins ist von Wassermann und Ficker zugleich mit der Herstellung des antitoxischen Serums gelungen. Tabellen XII und XIII zeigen die Wirkung zweier Immunsera. Zur Kontrolle diente eine Reihe mit Normalserum.

Tabelle XI.

Toxinmenge ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normales Toxin VII	Toxin VII $^1/_2$ Std. bei 45^0	Toxin VII $^1/_2$ Std. bei 50^0
1,0	0,5	kpl.	mäßig	0
0,8	0,5	„	„	0
0,6	0,5	„	wenig	0
0,4	0,5	„	„	0
0,2	0,5	sehr stark	Spur	0
0,1	0,5	mäßig	„	0
0,08	0,5	„	Spürchen	0
0,06	0,5	wenig	„	0
0,04	0,5	„	„	0
0,02	0,5	Spürchen	0	0
0,007	0,5	„	0	0
0,002	0,5	0	0	0

Tabelle XII.

Toxinmenge ccm	Serummenge 1 : 100 ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normalserum	Immunserum „Brauner“	Immunserum „Hengst“	Bemerkungen
0,2	0,8	0,5	Spürchen	0	0	Toxin 0,2
0,2	0,7	0,5	„	0	0	löst 0,5 Blut
0,2	0,6	0,5	„	0	0	„fast
0,2	0,55	0,5	Spur	0	0	komplett“.
0,2	0,5	0,5	„	0	0	
0,2	0,45	0,5	„	0	0	
0,2	0,4	0,5	wenig	0	0	
0,2	0,35	0,5	„	0	0	
0,2	0,3	0,5	„	0	Spürchen	
0,2	0,2	0,5	mäßig	Spur	wenig	
0,2	0,1	0,5	„	wenig	„	
0,2	0,05	0,5	„	„	wenig mäßig	

Tabelle XIII.

Toxinmenge ccm	Serummenge 1 : 100 ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Normalserum „Brauner“	Immunserum „Hengst“	Bemerkungen
0,2	0,8	0,5	wenig	0	Toxin 0,2 löst 0,5 Blut komplett.
0,2	0,75	0,5	„	0	
0,2	0,7	0,5	„	0	
0,2	0,65	0,5	„	0	
0,2	0,6	0,5	„	0	
0,2	0,55	0,5	„	0	
0,2	0,5	0,5	„	0	
0,2	0,45	0,5	„	0	
0,2	0,4	0,5	„	0	
0,2	0,35	0,5	„	0	
0,2	0,3	0,5	„	Spürchen	
0,2	0,25	0,5	„	Spur	
0,2	0,2	0,5	„	„	
0,2	0,15	0,5	mäßig	„	
0,2	0,10	0,5	stark	wenig	

Aus Tabelle XII und XIII sehen wir ferner, daß auch dem Normalpferdeserum eine hemmende Wirkung zukommt, natürlich in geringerem Grade als dem Immunserum. Versuche mit 3 Normalseren, wie Tabellen XIV, XV und XVI sie darstellen, und 4 Toxinen zeigen, daß dasselbe Toxin von verschiedenen Seris verschieden stark beeinflußt wird, und daß dasselbe Serum verschiedene Toxine verschieden beeinflußt.

Tabelle XIV.

Normalserum „Schimmel“ 1 : 100 ccm	Kaninchenblut 5 % ccm	Mal. Ödem Toxin II 0,3 ccm	Mal. Ödem Toxin IV 0,2 ccm	Mal. Ödem Toxin V 0,2 ccm	Mal. Ödem Toxin VII 0,3 ccm	Bemerkungen
0,80	0,5	0	Spur	0	0	0,3 Toxin II löst 0,5 Blut „sehr stark“. 0,2 „ IV „ 0,5 „ „komplett“. 0,2 „ V „ 0,5 „ „sehr stark“. 0,3 „ IIV „ 0,5 „ „ „
0,60	0,5	0	„	0	0	
0,50	0,5	0	„	0	0	
0,40	0,5	0	„	0	Spürchen	
0,35	0,5	0	„	0	„	
0,30	0,5	Spürchen	„	0	„	
0,25	0,5	„	„	0	Spur	
0,20	0,5	Spur	wenig	Spürchen	„	
0,15	0,5	„	„	„	wenig	
0,10	0,5	wenig	mäßig	Spur	„	
0,05	0,5	„	sehr stark	wenig	stark	
0,01	0,5	sehr stark	kpl.	sehr stark	sehr stark	

Tabelle XV.

Normalserum III „Russenhengst" 1 : 100 ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Toxin II 0,3 ccm	Toxin IV 0,2 ccm	Toxin V 0,2 ccm	Toxin VII 0,3 ccm	Bemerkungen
0,80	0,5	0	Spürchen	0	0	Desgl. wie in Tabelle XIV.
0,60	0,5	0	„	0	0	
0,50	0,5	0	„	0	0	
0,40	0,5	0	„	0	0	
0,35	0,5	0	„	0	0	
0,30	0,5	Spürchen	Spur	Spürchen	0	
0,25	0,5	„	„	„	Spürchen	
0,20	0,5	„	„	„	„	
0,15	0,5	wenig	wenig	„	„	
0,10	0,5	„	„	Spur	Spur	
0,05	0,5	mäßig	stark	mäßig	wenig	
0,01	0,5	sehr stark	kpl.	sehr stark	sehr stark	

Tabelle XVI.

Normalpferdeserum I „Dunkelbrauner" 1 : 100 ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Mal. Ödem Toxin II 0,2 ccm	Mal. Ödem Toxin IV 0,1 ccm	mal. Ödem Toxin V 0,1 ccm	Mal. Ödem Toxin VII 0,2 ccm	Bemerkungen
0,80	0,5	wen. Spur	wenig	Spur	wenig	0,2 Toxin II löst 0,5 Blut mäßig. 0,1 „ IV „ 0,5 „ fast kpl. 0,1 „ V „ 0,5 „ sehr stark. 0.2 „ IIV „ 0.5 „ mäßig.
0,60	0,5	wenig	„	„	„	
0,50	0,5	„	mäßig	„	„	
0,40	0,5	„	„	wenig	„	
0,35	0,5	wen. mäß.	„	„	wen. mäß.	
0,30	0,5	„	„	„	„	
0,25	0,5	„	mäß. stark	wen. mäß.	„	
0,20	0,5	mäßig	stark	„	wenig	
0,15	0,5	„	„	„	„	
0,10	0,5	„	sehr stark	„	„	
0,05	0,5	„	„	„	„	
0,01	0,5	„	fast kpl.	sehr stark	„	

Daß es auch hier die Lipoide sind und zwar höchst wahrscheinlich nur die Lecithinfraktion, nicht das Cholesterin, glaube ich dadurch zeigen zu können, daß ein kalter Alkoholextrakt aus Serum ebenfalls hemmende Wirkung zeigt, wie aus Tabelle XVII hervorgeht.

Tabelle XVII.

Alkoholextrakt aus 2,0 trock. Pf.-Serum in 20 ccm NaCl übergeführt	Mal. Ödem Toxin ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Grad der Lyse
0,7	0,075	0,5	Spürchen
0,5	0,075	0,5	"
0,2	0,075	0,5	"
0,07	0,075	0,5	Spur
0,05	0,075	0,5	"
0,02	0,075	0,5	wenig Spur
0,007	0,075	0,5	wenig mäßig
0,005	0,075	0,5	mäßig
0,002	0,075	0,5	stark
0,0007	0,075	0,5	"
0,0005	0,075	0,5	"
0,0002	0,075	0,5	"
—	0,075	0,5	stark

Daß das Toxin nicht allein durch Zerstörung der Lipoidmembran der Erythrocyten wirkt, beweist Tabelle XVIII, die die Bindung des Giftes durch Stromata zeigt. Die Stromata waren durch Auflösen der Erythrocyten in dest. Wasser, Fällen durch Kochsalzzusatz, Zentrifugieren und Waschen in Kochsalzlösung hergestellt. Eine bloße Adsorptionswirkung erscheint den quantitativen Verhältnissen nach ausgeschlossen.

Tabelle XVIII.

Toxinmenge ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Toxin VII	Toxin VII, 2 Std. bei 37° mit Kaninchen-Stromata digeriert
1,0	0,5	kpl.	Spürchen
0,9	0,5	"	"
0,6	0,5	"	"
0,3	0,5	stark	0
0,15	0,5	mäßig	0
0,12	0,5	wenig	0
0,09	0,5	"	0
0,06	0,5	Spur	0
0,03	0,5	Spürchen	0
0,015	0,5	"	0
0,003	0,5	0	0

Dieselbe hemmende Wirkung zeigt ein alkoholischer Extrakt aus Stromatis (siehe unten).

Gegenüber diesen Befunden erhob sich nun doch die Frage, ob nicht diese Eigenschaft der Hämotoxizität der Grund für die Giftigkeit des malignen Ödemtoxins ist. Identisch sind nun Hämotoxin und Toxin sicherlich nicht. Gegen die Identität spricht die Tatsache, daß das Hämotoxin schon bei 45° geschädigt, bei 50° zerstört wird, während das Toxin erst bei höherer Temperatur völlig zerstört wird. Des weiteren wirkt auf das Hämolysin Normalserum hemmend, während es auf die Toxizität gar keinen Einfluß hat. Ferner ist das Toxin auf den verschiedensten Nährböden zu gewinnen, während das Hämolysin sich nur bei gewissen offenbar optimalen Bedingungen (Traubenzuckerzusatz) bildet. Schließlich bemerkt man bei Immunisierung von Tieren, daß anfangs das Serum schon antitoxischen Wert haben kann zu einer Zeit, wo es noch keine Antihämolysine enthält. Ist nun aus obigen Gründen eine Identität beider Gifte abzulehnen, so fragt es sich doch, ob nicht eine Übereinstimmung zwischen hämotoxischer und toxischer Wirkung besteht. In vollem Umfange besteht nun diese Beziehung nicht. In vielen Fällen entspricht allerdings einer hohen Toxizität des Giftes ein gutes hämolytisches Vermögen. Auffällig war geradezu, wie jede Verunreinigung — zu der es bei der Züchtung im Wasserstoffstrom gelegentlich kommen kann —, die zu einem Stinken der Kulturflüssigkeit geführt hatte, sich sofort durch den völligen Mangel an Hämolysin sowie an Toxin dokumentierte. Doch bestehen ganz zweifellos zahlreiche Ausnahmen, so daß wir es auf Grund unserer Versuche ablehnen müssen, die Giftwirkung allein auf das Hämotoxin zurückzuführen. Vor allem spricht dagegen die Tatsache, daß es gelingt, durch geeignete Auswahl der Nährböden Gifte darzustellen, die bei guter Toxizität keine Spur von Hämolysin enthalten.

Anders liegt nun die Frage, ob sich nicht eine Übereinstimmung zeigt zwischen der Giftwirkung des Toxins und seiner Affinität zum Lecithin. Und hier stimmen die Versuche wesentlich besser überein, auch in vivo. Ich habe zur Klärung dieser Frage Giftbindungsversuche mit Organen angestellt. Den grundlegenden Versuch zeigten bekanntlich v. Wassermann und Takaki mit Tetanustoxin und Hirnsubstanz. Meine Versuche wurden auf folgende Weise angestellt: Ein Meerschweinchen wurde entblutet und mit Kochsalz nachgespült, die Organe, Hirn, Muskel, Leber, Niere entnommen, in sterilen Schälchen gewogen und je 2 g Organ mit 2 ccm Toxin und mit 4 bzw. 6 ccm Kochsalzlösung gut verrieben (über die Mengenverhältnisse siehe die einzelnen Tabellen). Dann wurde das Gemisch in Zentrifugengläschen gefüllt und kam $^1/_2$ Stunde in den Brutschrank von 37°. Zur Trennung und Klärung war scharfes Zentrifugieren auf der elektrischen Zentrifuge erforderlich. Bei Berechnung der Versuchsdosen ist natürlich die vorgenommene Verdünnung zu berücksichtigen. Die Injektion des Giftes erfolgte intravenös. Ich lasse nun hier eine Reihe von Giftbindungsversuchen folgen.

Tabelle XVIII.

Maus . . .	13 g	Normales Toxin VII 1 : 3 0,15	tot nach 2 Min.
Maus . . .	15 g	Muskeltoxin 1 : 3 0,15	tot nach 30 Min.
Maus . . .	14 g	Nierentoxin 1 : 3 0,15	lebt
Maus . . .	16 g	Gek. Hirntoxin 1 : 3 0,2	lebt

Tabelle XVIIIa.

Toxin-menge ccm	Kaninchen-blut 5 % ccm	Normales Toxin VII 1 : 3	Mit Muskel beh. Toxin 1 : 3	Mit Niere beh. Toxin 1 : 3	Mit ge-kochtem Hirn beh. Toxin 1 : 3
0,3	0,5	kpl.	mäßig	Spürchen	wenig
0,15	0,5	fast kpl.	wenig	„	Spur
0,03	0,5	Spürchen	0	0	0
0,003	0,5	0	0	0	0

Tabelle XIX.

Maus . . .	16 g	Normales Toxin II 1 : 4 0,6	tot nach 30 Min.
Maus . . .	13 g	Lebertoxin 1 : 4 0,6	tot nach ca. 12 Std.
Maus . . .	14 g	Muskeltoxin 1 : 4 0,6	tot nach ca. 24 Std.
Maus . . .	15 g	Nierentoxin 1 : 4 0,6	lebt
Maus . . .	15 g	Hirntoxin 1 : 4 0,6	lebt

Tabelle XIXa.

Toxin-menge ccm	Kaninchen-blut 5 % ccm	Normales Toxin II 1 : 4	Mit Leber beh. Toxin 1 : 4	Mit Muskel beh. Toxin 1 : 4	Mit Niere beh. Toxin 1 : 4	Mit Hirn beh. Toxin 1 : 4
0,8	0,5	wenig	Spürchen	0	0	0
0,7	0,5	„	„	0	0	0
0,6	0,5	„	„	0	0	0
0,5	0,5	Spur	0	0	0	0
0,4	0,5	„	0	0	0	0
0,3	0,5	Spürchen	0	0	0	0
0,2	0,5	„	0	0	0	0
0,1	0,5	„	0	0	0	0
0,08	0,5	0	0	0	0	0
0,05	0,5	0	0	0	0	0
0,02	0,5	0	0	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0	0

Tabelle XX.

Maus . . .	20 g	Normales Toxin V 1 : 4 0,6	tot nach 40 Min.
Maus . . .	16 g	Muskeltoxin 1 : 4 0,6	tot nach 12 Std.
Maus . . .	15 g	Nierentoxin 1 : 4 0,6	lebt
Maus . . .	16 g	Hirntoxin 1 : 4 0,6	lebt

Tabelle XXa.

Toxin-menge ccm	Kaninchen-blut 5% ccm	Normales Toxin V 1 : 4	Mit Muskel beh. Toxin 1 : 4	Mit Niere beh. Toxin 1 : 4	Mit Hirn beh. Toxin 1 : 4
0,8	0,5	mäßig	0	Spürchen	0
0,7	0,5	"	0	"	0
0,6	0,5	"	0	"	0
0,5	0,5	wenig	0	0	0
0,4	0,5	"	0	0	0
0,3	0,5	Spur	0	0	0
0,2	0,5	Spürchen	0	0	0
0,1	0,5	"	0	0	0
0,08	0,5	"	0	0	0
0,05	0,5	"	0	0	0
0,02	0,5	"	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0

Tabelle XXI.

Maus . . .	18 g	Normales Toxin IV 1 : 4 0,6	tot nach 24 Min.
Maus . . .	16 g	Lebertoxin 1 : 4 0,6	tot nach 50 Min.
Maus . . .	12 g	Muskeltoxin 1 : 4 0,6	tot nach 5 Min.
Maus . . .	15 g	Nierentoxin 1 : 4 0,6	tot n. 2 Std. 50 Min.
Maus . . .	15 g	Hirntoxin 1 : 4 0,6	tot n. 2 Std. 57 Min.

Tabelle XXIa.

Toxinmenge ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normales Toxin IV 1 : 4	Mit Leber beh. Toxin 1 : 4	Mit Muskel beh. Toxin 1 : 4	Mit Niere beh. Toxin 1 : 4	Mit Hirn beh. Toxin 1 : 4
0,8	0,5	sehr stark	Spur	Spur	Spur	0
0,7	0,5	„ „	„	„	„	0
0,6	0,5	stark	„	„	Sp. Spürch.	0
0,5	0,5	„	Sp. Spürch.	„	Spürchen	0
0,4	0,5	mäßig	„ „	Sp. Spürchen	„	0
0,3	0,5	„	„ „	„ „	0	0
0,2	0,5	wenig	„ „	Spürchen	0	0
0,1	0,5	Spürchen	Spürchen	„	0	0
0,08	0,5	„	„	„	0	0
0,05	0,5	0	0	0	0	0
0,02	0,5	0	0	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0	0

Tabelle XXII.

Maus . . .	13 g	Normales Toxin 1 : 3 0,45	tot nach 2 Min.
Maus . . .	12 g	Lebertoxin 1 : 3 0,45	tot nach 8 Min.
Maus . . .	12 g	Muskeltoxin 1 : 3 0,45	tot nach 10 Min.
Maus . . .	13 g	Nierentoxin 1 : 3 0,45	tot nach ca. 12 Std.
Maus . . .	13 g	Hirntoxin 1 : 3 0,45	tot nach ca. 12 Std.

Tabelle XXIIa.

Toxinmenge ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normales Toxin VII 1 : 3	Mit Leber beh. Toxin 1 : 3	Mit Muskel beh. Toxin 1 : 3	Mit Niere beh. Toxin 1 : 3	Mit Hirn beh. Toxin 1 : 3
0,9	0,5	stark	mäßig	wenig	0	0
0,7	0,5	mäßig	„	Spur	0	0
0,6	0,5	wenig	„	„	0	0
0,5	0,5	„	wenig	Spürchen	0	0
0,4	0,5	„	„	„	0	0
0,3	0,5	„	„	„	0	0
0,2	0,5	Spur	Spur	„	0	0
0,1	0,5	Spürchen	Spürchen	0	0	0
0,08	0,5	„	„	0	0	0
0,05	0,5	„	„	0	0	0

Tabelle XXIII.

Maus . . .	20 g	Normales Toxin VII 1 : 4 0,8	tot nach $2^1/_2$ Min.
Maus . . .	15 g	Lebertoxin 1 : 4 0,8	tot nach ca. 12 Std.
Maus . . .	15 g	Muskeltoxin 1 : 4 0,8	tot nach ca. 12 Std.
Maus . . .	13 g	Nierentoxin 1 : 4 0,8	lebt
Maus . . .	15 g	Hirntoxin 1 : 4 0,8	lebt

Tabelle XXIIIa.

Toxinmenge Toxin VII ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normaltoxin 1 : 4	Hirntoxin 1 : 4	Lebertoxin 1 : 4	Muskeltoxin 1 : 4
0,6	0,5	fast kpl.	Spürchen	stark	Spur
0,5	0,5	„ „	„	„	„
0,45	0,5	„ „	„	„	„
0,4	0,5	sehr stark	„	„	„
0,35	0,5	stark	„	„	„
0,3	0,5	„	„	mäßig	Spürchen
0,2	0,5	mäßig	„	wenig	„
0,1	0,5	Spur	„	„	„
0,05	0,5	Spürchen	„	Spürchen	„
0,01	0,5	0	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0

Tabelle XXIV.

Toxinmenge ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normaltoxin 1 : 4	Hirntoxin 1 : 4	Nierentoxin 1 : 4	Lebertoxin 1 : 4	Muskeltoxin 1 : 4
0,8	0,5	wenig	0	0	Spürchen	0
0,7	0,5	„	0	0	„	0
0,6	0,5	„	0	0	„	0
0,5	0,5	Spur	0	0	0	0
0,4	0,5	„	0	0	0	0
0,3	0,5	Spürchen	0	0	0	0
0,2	0,5	„	0	0	0	0
0,1	0,5	„	0	0	0	0
0,08	0,5	0	0	0	0	0
0,05	0,5	0	0	0	0	0
0,02	0,5	0	0	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0	0

Der Versuch wurde insgesamt 6 mal wiederholt. Wir sehen, daß in 4 Versuchen diejenigen Mäuse und zwar nur diejenigen, die das mit Hirn und Niere vorbehandelte Toxin erhalten hatten, am Leben blieben. Nur bei 2 Versuchen sind auch diese Tiere gestorben. Und das liegt an der etwas hochgegriffenen Toxindosis, wie aus dem raschen Tod der

Kontrolltiere ersichtlich ist, doch ist auch hier eine lebensverlängernde Wirkung nicht zu verkennen. Von einigen Giftbindungsversuchen wurden auch hämolytische Reihen angesetzt, und zwar normales entsprechend verdünntes Toxin gegen die Toxinmengen, die mit den Organen vorbehandelt waren. Das Resultat war eine teilweise Übereinstimmung zwischen Minderung der Toxizität und Herabsetzung der hämolytischen Fähigkeit durch Hirn und Niere; also eine Tatsache, die bei der oben gestellten Frage über die Beziehungen zwischen lytischem Vermögen und Toxizität immerhin in affirmativem Sinne in die Wagschale fallen könnte. Bemerkenswert ist nun, daß in Tabelle XVIII dem gekochten Hirn dieselbe entgiftende Fähigkeit zukommt wie dem normalen. Es spricht diese Tatsache dagegen, daß Eiweißkörper an der Entgiftung wesentlichen Anteil haben, und rückt die Lipoide in den Vordergrund. Auch hier erhebt sich nun die Frage, zu welcher Gruppe die hemmende Substanz gehört, und auch hier fanden wir sie durch kalten Alkohol extrahierbar, allerdings nur zum Teil, wie die folgenden Versuche zeigen. Die gut zerriebenen Organe wurden 24 Stunden lang mit mehreren Portionen 96%igem Alkohol geschüttelt, der vereinigte Alkohol auf dem Wasserbade eingeengt — auch hier zeigt sich die Thermostabilität des Hemmungskörpers — und in 20 ccm 0,85%iger Kochsalzlösung tropfenweise überführt. Nach kurzem Schütteln erhielt ich eine hinlänglich stabile homogene Suspension.

Tabelle XXV.

Maus . . .	15 g	Normales Toxin VII 1 : 2 0,2	tot nach 45 Min.
Maus . . .	15 g	Lebertoxin (Extrahierte Leber) 1 : 2 0,2	tot nach 55 Min.
Maus . . .	15 g	Nierentoxin (Extrahierte Niere) 1 : 2 0,2	tot n. 1 Std. 57 Min.
Maus . . .	16 g	Hirntoxin (Extrahiertes Hirn) 1 : 2 0,2	lebt

Tabelle XXVa.

Toxinmengen ccm	Kaninchenblut 5% ccm	Normales Toxin VII 1 : 2	Lebertoxin (Extr. Leber) 1 : 2	Nierentoxin (Extr. Niere) 1 : 2	Hirntoxin (Extr. Hirn) 1 : 2
0,6	0,5	kpl.	kpl.	Spur	Spur
0,5	0,5	fast kpl.	„	„	Spürchen
0,4	0,5	mäßig	mäßig	Spürchen	„
0,3	0,5	wenig	wenig	„	„
0,2	0,5	Spur	Spur	„	0
0,1	0,5	Spürchen	Spürchen	0	0
0,08	0,5	„	„	0	0
0,05	0,5	„	„	0	0
0,02	0,5	0	0	0	0
0,005	0,5	0	0	0	0

Tabelle XXVI.

Extr.-Menge ccm	Toxin VII 0,3 ccm	Kaninchenbl. 5 % ccm	Leber-extrakt	Nieren-extrakt	Hirn-extrakt	Stromata-extrakt	Bemerkungen
0,6	0,3	0,5	mäßig	mäßig	mäßig	mäßig st.	0,3 Toxin allein löst 0,5 Blut komplett
0,5	0,3	0,5	"	"	"	"	
0,4	0,3	0,5	"	"	"	"	
0,3	0,3	0,5	"	"	"	"	
0,2	0,3	0,5	"	stark	mäßig st.	"	
0,1	0,3	0,5	"	"	stark	stark	
0,08	0,3	0,5	"	"	sehr stark	"	
0,06	0,3	0,5	stark	s. stark	"	"	
0,04	0,3	0,5	"	fast kpl.	fast kpl.	"	
0,02	0,3	0,5	"	"	"	sehr stark	
0,007	0,3	0,5	s. stark	"	"	"	
0,002	0,3	0,5	fast kpl.	"	"	"	

Aus Tabelle XXV, XXVa und XXVI sieht man, daß hier die hemmende Substanz durch Ausschüttelung zum Teil in den Alkohol übergegangen ist und das Giftbindungsvermögen der Organe aufgehoben ist, außerdem des Gehirns, was wohl dem Reichtum dieses Organs an dem bindenden Lipoid zuzuschreiben ist. Bei der Prüfung am Hämolysin erwiesen sich Organ und Extrakt schwach hemmend, die Substanzen waren also nicht völlig, sondern nur teilweise ausgeschüttelt worden.

Da mir die Konstanz der Reihenfolge des Giftbindungsvermögens Hirn und Niere gegenüber Muskel und Leber auffällig erschien, suchte ich nach einer Erklärung hierfür, und da zeigte es sich, daß diese Skala dem Lecithingehalt der Organe entspricht. Ich führe hier nur nachfolgende Analysen auf[1]):

	% an Lecithin lebend	trocken
Gehirn	3,863	12,41
Niere	1,34	5,02
Leber	1,07	3,82
Muskel	0,609	2,59

Ebenda zitiert[2]):

	% an Lecithin
Muskel . . .	0,4—0,75
Niere	1,2
Leber	0,8—1,5
Blut	0,2
Erythrocyten	0,75

Bei der anerkannten Schwierigkeit solcher Analysen möchte ich diese Tatsache nicht als bindenden Beweis, aber als ein doch immerhin recht beachtenswertes Zusammentreffen betrachten.

[1]) Nerking, diese Zeitschr. 10, 1898.

[2]) Fränkel, Deskript. Biochemie, diese Zeitschr. 10, 1898.

Fassen wir die Ergebnisse zusammen, so glaube ich gezeigt zu haben, daß wir im Ödemgift zum ersten Male ein echtes Toxin vor uns haben, dessen Haupteigenschaft eine ausgesprochene Lecithinophilie ist. Das Hämotoxin und das Toxin sind zweifellos nicht identisch. Sie zeigen einen gewissen Parallelismus, jedoch kommen in unseren Versuchen zahlreiche Abweichungen vor. Gute Übereinstimmung auch bei unseren Versuchen in vivo zeigen dagegen Lecithinophilie und Toxizität des Ödemgiftes.

Es erscheint notwendig, hier kurz die auf diesem Gebiet bereits festgestellten Tatsachen zu betrachten. Den Ausgangspunkt aller diesbezüglichen Untersuchungen bildet der Tetanustoxinbindungsversuch von v. Wassermann und Takaki. Alsbald setzten die Analysen ein, welche Substanz diese Entwicklung bedinge. Ignatowski fand Cholestearin und Lecithin, nicht aber Protagon wirksam; Landsteiner fand in Gemeinschaft mit Eisler und mit Botteri Protagon am stärksten wirksam, schwächer Cholestearin und dessen Derivate, am schwächsten Lecithin. Takaki findet nur die Cerebroside, also N-haltige, aber P-freie Lipoide wirksam. Auffallend ist freilich, daß gerade das Hirngrau, das das stärkste Giftbindungsvermögen besitzt und das sich als Hauptverankerungsstelle des Tetanustoxins schon klinisch demonstriert, am wenigsten Cerebroside enthält, so daß Takaki die Wirkung des Grau auf unbekannte Substanzen zurückführt. Fermi zeigte das Giftbindungsvermögen der Nervensubstanz gegen Lyssavirus. Pascucci beschrieb die entgiftende Wirkung des Cerebrons auf Kobragift, und Morgenroth und Reicher zeigten, daß Cholestearininjektionen gegen Kobratoxin einen gewissen Schutz gewähren. Overton und Bang fanden Cholestearin und Öl, wahrscheinlich auch Lecithin gegen Kobragift wirksam. Nach Kempner und Schepilewski wird das Botulismustoxin durch Cholestearin, Lecithin, tierische Fette, Milch, Butter, Eigelb und Öl in verschiedenem Grade beeinflußt. Phisalix fand Cholestearin wirksam gegen Kobratoxin. Ransom zeigte, daß die Saponinhämolyse durch Cholestearin gehemmt wird; Meyerstein konnte dasselbe für Lecithin, Cephalin, Cerebron und Blutkörperchenextrakt zeigen. Weitere Arbeiten über die Neutralisation von Toxinen (Diphtherietoxin, Schlangengift, Tetano-

spasmin) lieferten Bruschettini und Calcaterra, Overton und Bang, Laroche und Grigaut, Raubitschek und Ruß, Bang, Walbum.

Was ist nun das gemeinsame Resultat dieser Arbeiten? Eine Beeinflussung in hemmendem Sinne von Giften, die ausgesprochen neurotrop sind, durch Lipoide der verschiedensten Art in wechselnder Stärke. Die Erklärung hierfür ist unter Berücksichtigung von Ehrlichs, Meyer und Overtons und Ransoms Arbeiten nicht schwer. Nehmen wir den relativ einfachsten Fall, die Hämolyse. Hier haben wir grob ausgedrückt ein System, bestehend aus lipoidhaltigen Erythrocyten, Kochsalzlösung und dem lipotropen Gift. Das Gift wird gemäß seinem Verteilungskoeffizienten die Tendenz zu den lipoidhaltigen Erythrocyten haben. Bringen wir noch irgendein Lipoid in dieses System hinein, so stören wir naturgemäß den ganzen Vorgang. Das Gift wird zu demjenigen Lipoid gehen, zu dem es die größte Affinität hat. Das Ganze kann man als Ausschüttelungsverfahren betrachten. Etwas komplizierter wird die Sache in vivo. Voraussetzung für die Wirkung im Nervensystem ist die Fixation, Voraussetzung dieser das Heranbringen des Toxins an die Zellen. Dieses wiederum ist abhängig von der Verteilung des Giftes im Organismus, die im wesentlichen durch die Löslichkeitsverhältnisse bedingt ist. Wir müssen annehmen, daß ein gewisser Teil des Toxins zunächst von den Blutkörperchen und Lipoiden des Serums gebunden wird. Wir wissen aber durch die Untersuchungen von Arrhenius, Madsen und anderen, daß diese Verbindungen dissoziierbar sind. Infolge des größeren Gehaltes der Nervensubstanz an Lipoidstoffen werden die Toxine in diese übergehen. Führen wir nun hier noch andere Lipoide zu, so wird sich auch hier der Verteilungsmodus ändern. In Übereinstimmung hiermit stehen die Befunde von de Waele sowie Dold und Ungermann, die bei kleinen Mengen fördernde, bei großen hemmende Wirkung der Lipoide finden. Wir schließen uns der Ansicht von Dold und Ungermann an, daß durch kleine Dosen die Lösungsverhältnisse für das Toxin geändert und die Heranführung an die Zelle und damit die Verankerung erleichtert wird.

Entsprechend diesen Tatsachen haben wir auch bei dem Ödemgift eine Beeinflussung durch Lipoide zeigen können (Ver-

such 10). Keines dieser Lipoide zeigte jedoch die ausgesprochene und deutliche Wirkung des Lecithins.

Nun spielen außer diesen physikalisch-chemischen Gesetzen ohne Zweifel auch rein chemische Beziehungen und Affinitäten eine Rolle. Durch Abderhalden und Le Count sowie durch Hausmann wissen wir z. B., daß beim Cholestearin die entgiftende Wirkung vom Vorhandensein der OH-Gruppe abhängig ist. Und wir sind geneigt, das Lecithin in seiner entgiftenden Wirkung auf das Ödemlysin dem Cholestearin mit seiner entgiftenden Wirkung auf andere Toxine an die Seite zu stellen.

Wir haben, um zu wiederholen, im Ödemgift unseres Erachtens zum ersten Male ein echtes Toxin, das sich durch eine ganz ausgesprochene Affinität zum Lecithin auszeichnet. Weitere Arbeiten darüber sind teils im Gange, teils bleiben sie ruhigeren Zeiten vorbehalten. Es wäre nun hinsichtlich der Beziehungen zwischen der Lecithinverwandtschaft des Ödemgiftes und seiner Verwandtschaft zum Nervensystem ein verlockender Gedanke, anzunehmen, daß wir hier in einer chemisch definierbaren Substanz den Zellreceptor vor uns hätten. Doch möchte ich hier diesen Gedanken nur mit aller Vorsicht äußern, da die Versuche, wenn auch gute, so doch nicht völlig unzweideutige Grundlagen geben und mich vorläufig nicht zu mehr berechtigen. Ich gebe mich jedoch dem Glauben hin, einen weiteren Weg gewiesen zu haben, die noch so dunkle Tatsache der biologischen Affinitäten und der Zell- und Organspezifität der Toxine auf chemische bzw. physikalisch-chemische Fragen zurückzuführen und so unserer Kenntnis näherzubringen.

Literatur.

Abderhalden und Le Count, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 2, 199, 1905.

Bang, Chemie und Biochemie der Lipoide, Bergmann, Wiesbaden 1911.

Derselbe, diese Zeitschr. 31, 1911.

Bruschettini und Calcaterra, Centralbl. f. Bakt. 60, 1911.

Dönitz, Deutsche med. Wochenschr. 1897.

Ehrlich, Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus, Berlin 1885.

Derselbe, von Leyden-Festschrift.

Fermi, Centralbl. f. Bakt. 46.

Ficker, Med. Klinik 1917, H. 45.

Hausmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 567, 1905.
Höber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe, Leipzig 1911.
Ignatowsky, Centralbl. f. Bakt. 35, 4, 158, 1904.
Kempner und Schepilewsky, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten 27, 898.
Kolle-v. Wassermann, Handb. d. pathogenen Mikroorganismen, Jena 1913.
Kraus und Levaditi, Handb. d. Technik u. Methodik d. Immunitätsforschung, Jena 1909.
Landsteiner, s. Kolle u. v. Wassermann.
Derselbe und Botteri, Centralbl. f. Bakt. 42, 1906.
Derselbe und Eisler, Centralbl. f. Bakt. 39, 1915; Wiener klin. Wochenschr. 1905.
Laroche und Grigot, Annales de l'Inst. Pasteur 25, 1911.
Loewe, diese Zeitschr. 33 u. 34.
Meyer und Ransom, Arch. f. experim. Pathol. 1903.
Meyer, H., Arch. f. experim. Pathol. 1899 bis 1909.
Morgenroth und Reicher, Berl. klin. Wochenschr. 1907.
Müller, P. Th., Vorlesungen über Infekt. u. Immunität, Jena 1917.
Nerking, diese Zeitschr. 10, 1898.
Overton, Studien über die Narkose, Jena 1901.
Derselbe und Bang, diese Zeitschr. 31.
Pascucci, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 1905.
Pfeiffer und Bessau, Deutsche med. Wochenschr. 1917.
Phisalix, Soc. de Biol. 1897, 1898.
Porges s. Kraus-Levaditi.
Derselbe, Brauers Beiträge 2, 1914.
Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1901.
Raubitschek und Ruß, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 1, 1909.
Takaki, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 1908.
Wadle, de, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 3, 1909.
v. Wassermann und Takaki, Berl. klin. Wochenschr. 1898.

Versuche über Entgiftung eingeatmeter Blausäure durch Natriumthiosulfat.

Von

E. Teichmann und W. Nagel.

(Aus der Biologischen Abteilung des Hygienischen Institutes der Universität Frankfurt.)

(Eingegangen am 22. November 1918.)

Blausäuregas wird heutigentages zur Vertilgung hygienischer und wirtschaftlicher Schädlinge in großem Maßstab angewandt[1]. So sehr nun auch danach gestrebt wird, das bei der Ausführung der Vergasungen tätige Personal vor dem Gifte zu schützen, ist doch die Möglichkeit, daß sich Unfälle ereignen, wie die Praxis gezeigt hat, niemals ganz auszuschließen. Es ist daher eine dringliche Forderung, kein Mittel unbeachtet zu lassen, das bei Vergiftungen Rettung zu bringen geeignet sein könnte. Indem der eine der beiden Verfasser (Teichmann) in der Literatur unter diesem Gesichtspunkt Umschau hielt, stieß er auf eine Arbeit von S. Lang aus dem Jahre 1895, in der über Versuche berichtet wird, Blausäure zu entgiften[2]. Unter den geprüften Mitteln erwies sich nur Natriumthiosulfat ($Na_2S_2O_3$) als wirksam und geeignet.

Lang benutzte zu seinen Versuchen Kaninchen und Hunde. Die Blausäure wurde den Tieren in Gestalt einer 1%igen wäßrigen Cyankaliumlösung beigebracht. Ihre absolut tödliche Dosis wurde zu 3 mg pro Kilogramm bei subcutaner Injektion und zu 4 mg pro Kilogramm bei Einverleibung per os festgestellt. Das Natriumthiosulfat wurde entweder subcutan oder intravenös oder per os gegeben. Seine Giftigkeit ist nicht höher als die der indifferenten Salze überhaupt. Die Versuche

[1]) Vergl. den Verhandlungsbericht der II. Tagung der Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie, der demnächst in der Zeitschr. f. angewandte Entomologie erscheinen wird.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **36**, 75 bis 99.

ergaben folgendes: 1. wurde Blausäure subcutan, Thiosulfat intravenös beigebracht, so wurde das Doppelte und bei präventiver Anwendung eines kleinen Teiles des Gegengiftes bis zum Vierfachen der letalen Dosis unwirksam gemacht; 2. wurde Blausäure und Thiosulfat subcutan beigebracht, so wurde nur bei präventiver Injektion des Thiosulfats eine Wirkung erzielt; 3. wurde Blausäure per os, Thiosulfat subcutan gegeben, so konnte bis nahe an das Vierfache der letalen Dosis unschädlich gemacht werden; 4. wurde Blausäure per os, Thiosulfat intravenös verabreicht, so stieg die Wirkung bis zum Fünffachen der letalen Dosis; 5. wurde Blausäure und Thiosulfat per os gegeben, so konnte der Tod noch bei dem Einundeinhalbfachen der letalen Dosis abgewandt werden. Die Versuche zeigen also, daß dem Natriumthiosulfat eine starke entgiftende Wirkung auf Blausäure zukommt. Es geht ferner aus ihnen hervor, daß die Wahl der Eintrittsstelle von Gift und Gegengift in den Körper insofern von Belang ist, als dieses nur dann seine Wirkung entfalten kann, wenn es „früher oder doch gleichzeitig an der gefährdeten Stelle, in den Zellen der lebenswichtigen Organe“ eintrifft als jenes.

Die Ergebnisse, zu denen Lang kam, dürften angesichts der erhöhten praktischen Bedeutung, die die Blausäure inzwischen gewonnen hat, wichtig genug sein, um eine Nachprüfung zu rechtfertigen, die unter ähnlichen Bedingungen vorgenommen wurde, wie sie bei den Verfahren obwalten, auf die eingangs hingewiesen worden ist. Die Blausäure wurde also nicht wie bei den Langschen Versuchen in wäßriger Lösung von Cyankalium verwendet; vielmehr wurden die Versuchstiere veranlaßt, Cyanwasserstoff (HCN) in der Form des Gases einzuatmen. Es fragte sich nun, ob und in welcher Weise bei dieser Art der Aufnahme das Gift im Körper durch Natriumthiosulfat unschädlich gemacht werden kann.

Zu den Versuchen wurden Mäuse und Kaninchen benutzt. Von diesen beiden Tierarten eignet sich die Maus weit besser zu Versuchen, wie sie hier unternommen wurden, als das Kaninchen. Ganz abgesehen davon, daß die außerordentliche Preissteigerung für Laboratoriumstiere, der Anwendung von Kaninchen gegenwärtig ziemlich enge Schranken zieht, zeigte es sich, daß diese Tiere gegen das Gift besonders empfindlich sind. Manche von ihnen gingen nämlich, wenn sie unter 0,05 Vol. $^0/_0$ gebracht[1]) wurden, bereits nach 2 Min. 30 Sek. zugrunde; bei

[1]) Alle Angaben über die bei den Versuchen verwandte Konzentration des Blausäuregases beruhen auf Berechnung. Es wurde kein Wert darauf gelegt, die wirklich vorhandene Menge, die stets geringer gewesen sein dürfte, durch Titrieren zu bestimmen, da dies für die Bewertung der Versuchsergebnisse von keiner Bedeutung sein kann.

0,1 Vol.% erlagen selbst kräftige Tiere von über 2,5 kg Gewicht dem Gifte innerhalb 3 Minuten. Dabei trat der Tod nach plötzlich einsetzenden heftigen Krampferscheinungen sehr schnell ein, so daß es nicht immer gelang, das Tier lebend aus dem Versuchsraum herauszunehmen, selbst wenn es der Wirkung des Gases alsbald nach Auftreten der ersten Vergiftungserscheinungen entzogen wurde. Die Maus vermag demgegenüber der Blausäure nicht unbeträchtlichen Widerstand entgegenzusetzen. In vielen Fällen ertrugen es diese Tiere, 4, ja 5 Minuten und länger in 0,1 Vol.% Blausäure zu verweilen, ohne zugrunde zu gehen. Dazu kommt, daß sich mit wünschenswerter Sicherheit bestimmen läßt, wann die Tiere in das kritische Stadium der Vergiftung eingetreten sind. Es gelingt unschwer, sie der Blausäureeinwirkung so rechtzeitig zu entziehen, daß sie zwar schwere Vergiftungssymptome zeigen, aber doch noch mit dem Leben davonkommen. Dieses Verhalten bietet aber erst, wie sich noch zeigen wird, die Möglichkeit, die Versuche so zu gestalten, daß sie zu klaren Ergebnissen führen.

Es galt nämlich vor allem, einen zuverlässigen Maßstab dafür zu finden, inwieweit durch Anwendung von Natriumthiosulfat die Wirkung der Blausäure im Körper des Versuchstieres beeinflußt werden kann. Am einfachsten hätte sich diese Frage beantworten lassen, wenn es gelungen wäre, die Tiere zwar noch lebend aus der Blausäure herauszunehmen, aber doch so nachhaltig geschädigt, daß sie nach Verlauf einiger Zeit der Vergiftung erliegen mußten. Dann hätte sich ja gezeigt, ob der Tod solcher Tiere dadurch hintanzuhalten war, daß sie während der kritischen Zeitspanne mit Thiosulfat behandelt wurden. Unter solchen Gesichtspunkten wurde denn auch eine Reihe von Versuchen angestellt, über deren Verlauf zunächst berichtet werden soll.

Bevor das geschieht, seien einige Worte über die Anordnung der Versuche gestattet.

Als Versuchsraum diente eine Glasglocke von 15 cdm Inhalt. Sie ist mit abgeschliffenem Rand versehen, der mit Vaseline bestrichen auf eine plane Glasplatte aufgepreßt wird. Am Scheitel der Glocke befindet sich eine kreisförmige Öffnung von 4,5 cm Durchmesser. Sie wird durch einen Gummistopfen verschlossen, der so durchbohrt ist, daß ein Glasrohr von etwa 0,5 cm lichter Weite luftdicht durch ihn hindurchgeführt werden kann. Der aus der Glocke herausragende Teil des Glasrohres

erweitert sich zu einem Trichter und kann durch einen Glashahn abgeschlossen werden. Der Trichter dient zur Aufnahme von Schwefelsäure. Um den Versuchsraum mit Blausäure zu füllen, wird in warmem Wasser gelöstes Cyannatrium in einem Glasschälchen unter die Glocke gebracht und durch Öffnen des Hahnes Schwefelsäure zutropfen lassen. Die Entwicklung des Gases vollzieht sich dann sofort. Das Schälchen mit der Lösung wird gegen Eingriffe der Versuchstiere, die frei unter dem Rezipienten umherlaufen, dadurch geschützt, daß es in ein etwa 20 cm hohes zylindrisches Glasgefäß hineingestellt wird, in das das Glasrohr des Tropftrichters so weit hineinragt, daß es von der Oberfläche der Cyannatriumlösung um etwa 2 cm absteht. Diese Einrichtung verhindert auch, daß das Gas im Augenblick seiner Entstehung unmittelbar und, ohne sich mit der Luft genügend vermischt zu haben, von den Mäusen aufgenommen wird.

Um die gewünschten Gasmengen zu erzeugen, ist nach den Angaben der unten angeführten Arbeiten zu verfahren[1]). Was das Natriumthiosulfat anlangt, so wurde es stets in 10⁰/₀iger wäßriger Lösung benutzt. Die Angaben Langs über die Giftigkeit solcher Lösungen wurden durch den Versuch bestätigt. Es wurde immer 0,003 g $Na_2S_2O_3$ pro Gramm Körpergewicht verwandt, eine Dosis, die von Mäusen anstandslos vertragen wird. Die Einspritzung erfolgte stets in die Bauchhöhle.

Die erste Reihe von Versuchen, die unter den vorhin angedeuteten Gesichtspunkten ausgeführt wurden, umfaßte 12 Mäuse. Jede von ihnen wurde einzeln unter den Rezipienten gesetzt und dort bei 0,1 Vol.⁰/₀ HCN so lange belassen[2]), bis sie an der Grenze ihrer Widerstandskraft angelangt zu sein schien. Dann wurde sie an die frische Luft gebracht. Von den Tieren erhielten 6 unmittelbar nach der Behandlung mit Blausäure eine Thiosulfateinspritzung, 6 blieben unbehandelt. Die zunehmende Wirkung der Blausäure auf die Mäuse zeigt sich an ziemlich regelmäßig auftretenden Erscheinungen: sobald nämlich die Gasentwicklung einsetzt, laufen die Tiere unruhig umher, manche auch schnellen sich in die Luft; nach einer Weile beginnen sie zu taumeln; dann fallen sie auf die Seite und bleiben heftig atmend so liegen, bis sie von starken Krämpfen gegeschüttelt werden; im letzten Stadium der Krämpfe werden die hinteren Extremitäten so weit zurückgebogen, daß sie mit dem Rumpf des Tieres

---

[1]) Ernst Teichmann, Cyanwasserstoff als Mittel zur Entlausung. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 83, 415f. Derselbe, Bekämpfung der Stechmücken durch Blausäure. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. 85, 1f. Derselbe, Die Bekämpfung der Fliegenplage. Zeitschr. f. angew. Entomol. 4, 354.

[2]) Um diese Konzentration zu erhalten, wurde, da der Versuchsraum 15 cdm Inhalt hatte, 1 ccm einer Lösung von 0,35 g Cyannatrium in 10 ccm Wasser verwendet. Schwefelsäure wurde im Überschuß zugegeben.

eine Linie bilden; die Tiere stehen dann dicht vor dem Exitus. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die Ergebnisse dieser Versuche.

Tabelle I.

Nr. der Maus	Gewicht g	HCN-Einwirkungsdauer Min.	$Na_2S_2O_3$-Behandlung	Ergebnis	Bemerkungen
1	16	3	nichtbeh.	Tod	
2	18,5	3,5	"	Erholung	
3	20	4	"	Tod	
4	23	4	"	Erholung	
5	19,5	4,5	"	Tod	
6	19	4	"	"	
7	19	4	beh.	Erholung	
8	20	4	"	"	
9	21	4	"	"	
10	23	4,5	"	Tod	Stirbt während der $Na_2S_2O_3$-Injektion
11	16,5	4	"	Erholung	
12	15,5	4	"	Tod	

Von den 6 unbehandelten Tieren gingen also 4 zugrunde, 2 starben, davon die eine während der Injektion. Dieses Ergebnis spricht zwar für die Wirksamkeit des Thiosulfats; immerhin haftet der Versuchsanordnung insofern Unsicherheit an, als es in einer Minderzahl der unbehandelten Fälle nicht gelang, den Augenblick der Unterbrechung der Blausäureeinwirkung so abzupassen, daß der Tod eintrat (Maus Nr. 2 und 4). Es kann also der Einwand gemacht werden, daß die mit Thiosulfat behandelten Tiere Nr. 7, 8, 9 und 11 auch ohnedem am Leben geblieben wären. Dieser Einwand behält seine Kraft auch dann, wenn von zwei annähernd gleich schweren Mäusen, die zusammen und gleichlang unter Blausäure gehalten wurden, immer die eine unbehandelt blieb, während die andere eine Einspritzung erhielt. Auch hier zeigte sich, daß sich von den unbehandelten Tieren eine Minderzahl erholte. Und das wurde selbst dann nicht anders, als versucht wurde, den Unterschied in der Widerstandskraft der beiden gleichzeitig unter Gas gesetzten Tiere dadurch zu vergrößern, daß denen von ihnen, die mit Thiosulfat behandelt werden sollten, präventiv eine kleine Menge des Salzes, nämlich 0,1 ccm der 10%igen Lösung (= 0,01 g) intraperitoneal einverleibt wurde. Dadurch sollte es möglich gemacht werden, die Einwirkungsdauer der Blausäure so weit zu verlängern, daß das nicht behandelte Tier sicher zugrunde ging. Wie aus der Tabelle II zu entnehmen ist, trat aber dieser Erfolg unter 18 Fällen nur 6 mal ein, nämlich bei den Paaren Nr. 1, 4, 10, 12, 16 und 17.

Ein Überblick über die Ergebnisse der nachstehenden Versuche zeigt, daß von 16 mit Thiosulfat behandelten Tieren 10 (= 62,5%) am Leben blieben und 6 (= 37,5%) zugrunde gingen, daß andererseits von 18 nichtbehandelten Tieren 12 (= 66,6%) starben und 6 (= 33,3%)

Tabelle II.

Nr. der Maus	Gewicht g	Vorbehandlung mit $Na_2S_2O_3$	HCN-Einwirkungsdauer Min.	Nachbehandlung mit $Na_2S_2O_3$	Ergebnis	Bemerkungen
1a	20	—	5	beh.	Erholung	
1b	20	—	5	nichtbeh.	Tod	
2a	20	—	4,5	beh.	„	Stirbt unmittelb.
2b	18	—	4,5	nichtbeh.	Erholung	n. d. Injektion.
3a	15,5	—	4	„	Tod	Beide Tiere un-
3b	16	—	4	„	„	mittelbar nach
4a	14,5	—	3,5	„	„	Herausnehmen
4b	15	—	3,5	beh.	Erholung	aus HCN tot.
5a	12	—	3,5	„	Tod	
5b	12,2	—	3,5	nichtbeh.	„	
6a	16	—	4	beh.	Erholung	
6b	16	—	4	nichtbeh.	„	
7a	15	—	4	beh.	Tod	Stirbt bei der
7b	15	—	4	nichtbeh.	Erholung	Injektion.
8a	15	beh.	5	beh.	„	
8b	15	nichtbeh.	5	nichtbeh.	„	
9a	15	beh.	4,5	beh.	Tod	Stirbt bei der
9b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	„	Injektion.
10a	15	beh.	4,5	beh.	Erholung	
10b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	Tod	
11a	15	beh.	4,5	beh.	Erholung	
11b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	„	
12a	15	beh.	4,5	beh.	„	
12b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	Tod	
13a	15	beh.	4,5	beh.	„	
13b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	„	
14a	16	beh.	4,5	beh.	Erholung	
14b	16	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	„	
15a	15	beh.	4,5	beh.	Tod	
15b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	„	
16a	15	beh.	4,5	beh.	Erholung	
16b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	Tod	
17a	15	beh.	4,5	beh.	Erholung	
17b	15	nichtbeh.	4,5	nichtbeh.	Tod	

sich erholten. Werden diese Zahlen zueinander in Beziehung gesetzt, so ergibt sich zwar ein Übergewicht zugunsten der Thiosulfatbehandlung, dieses ist aber nicht so groß, daß es durchschlagend wirken könnte. Vielmehr bleibt immer ein sehr beträchtlicher Rest solcher Fälle (37,5 % bzw. 33,4 %), die sich in entgegengesetztem Sinne deuten lassen. Eine vorsichtige Beurteilung der bisher mitgeteilten Versuche wird sich damit begnügen müssen, festzustellen, daß sie nicht zu einwandfreien Ergebnissen geführt haben. Die Frage, ob Natriumthiosulfat auf eingeatmete

Blausäure entgiftend wirkt, kann also auf diesem Wege nicht sicher beantwortet werden.

Der Grund für die Unsicherheit der Ergebnisse liegt, das ergibt sich des weiteren aus Tabelle II, offenbar darin, daß bei Mäusen beträchtliche individuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit gegen eingeatmete Blausäure bestehen. Das wurde auch sonst immer wieder beobachtet. Ein einfacher Versuch, durch den diese Tatsache unmittelbar veranschaulicht wird, wurde in der Weise ausgeführt, daß 12 Mäuse, deren Gewicht zwischen 9 und 15 g lag (im Durchschnitt 11,25 g), einzeln so lange unter 0,1 Vol.$^0/_0$ Blausäure gehalten wurden, bis der Tod festgestellt werden konnte. Aus Tabelle III ist das Nähere zu ersehen.

Tabelle III.

Maus Nr. 1	ging in 0,1 Vol.-$^0/_0$ HCN	nach 2 Min. 30 Sek. ein
„ „ 2	desgl.	„ 3 „ 00 „ „
„ „ 3	desgl.	„ 4 „ 45 „ „
„ „ 4	desgl.	„ 5 „ 30 „ „
„ „ 5	desgl.	„ 3 „ 30 „ „
„ „ 6	desgl.	„ 3 „ 30 „ „
„ „ 7	desgl.	„ 3 „ 30 „ „
„ „ 8	desgl.	„ 4 „ 00 „ „
„ „ 9	desgl.	„ 4 „ 30 „ „
„ „ 10	desgl.	„ 5 „ 00 „ „
„ „ 11	desgl.	„ 6 „ 00 „ „
„ „ 12	desgl.	„ 6 „ 30 „ „

Der größte Unterschied liegt danach zwischen Maus Nr. 1 (2′ 30″) und Maus Nr. 12 (6′ 30″) vor. Gelegentlich wurden aber noch weit erheblichere Unterschiede festgestellt. So konnte z. B. eine Maus von 15 g Gewicht 35 Minuten bei 0,04 Vol.$^0/_0$ aushalten, während eine andere von 13 g Gewicht dem Gifte schon nach 6 Minuten erlegen war. Welches die Ursache für die verschiedene Empfindlichkeit der Tiere ist, darüber läßt sich nichts aussagen. Doch dürfte das Gewicht keine entscheidende Rolle dabei spielen, wie häufig beobachtet werden konnte.

Aus der Tatsache, daß die Empfindlichkeit der Versuchstiere gegen Blausäure starken individuellen Schwankungen unterliegt, ergab sich die Notwendigkeit, eine Versuchsanordnung zu treffen, durch die sich jene Unregelmäßigkeit ausgleichen ließ. Um das zu erreichen, war vor allem ein zuverlässigerer Maßstab für den Wirkungsgrad der Blausäure aufzustellen, als er bei den bisher besprochenen Versuchen zur Anwendung kam. Als solcher bot sich die Zeit dar, deren die Versuchstiere bedurften, um sich von der Wirkung der Blausäure zu erholen. Nach dem, was früher über die äußeren Symptome gesagt wurde, die sich bei den unter Blausäure befindlichen Mäusen einstellen, ist es nicht schwierig,

die Tiere so frühzeitig der Einwirkung des Gases zu entziehen, daß die eingeatmete Giftmenge noch unter der tödlichen Grenze bleibt. Dieser Zeitpunkt ist meist dann gegeben, wenn die ersten Krämpfe einsetzen. Wird das Tier nun aus der Blausäure herausgenommen, so liegt es zuerst mühsam atmend auf der Seite; allmählich beschleunigt es die Atmung, und nach einiger Zeit bemüht es sich, seine Lage zu ändern, indem es sich zunächst mit dem vorderen Teil des Körpers aufrichtet und nach einer Weile auch auf die hinteren Extremitäten stellt. Steht die Maus wieder auf ihren vier Beinen und beginnt auf leichte Reize hin umherzulaufen, so wurde angenommen, daß sie sich erholt habe, und die Zeit festgestellt, die seit der Herausnahme aus der Blausäure verstrichen war. Diese Zeit wird als Erholungszeit bezeichnet und dient zum Maße für den Grad der Vergiftung. Um aber nicht auf Einzelergebnisse angewiesen zu sein, wurden diese Versuche immer mit einer größeren Zahl von Mäusen ausgeführt und aus der Summe der erhaltenen Zahlen das Mittel genommen. Die so gewonnenen Werte gaben einen sicheren Grund für die Schlußfolgerungen, die aus ihnen zu ziehen waren.

Die Versuche, über die nun berichtet werden soll, wurden noch nach einer andern Richtung hin erweitert. Es wurde nämlich die Frage aufgeworfen, ob und in welcher Weise Natriumthiosulfat auf den Verlauf der Vergiftung wirkt, wenn es den Versuchstieren eingespritzt wurde, bevor sie unter Blausäure gebracht wurden. Einige Vorversuche ließen erkennen, daß die prophylaktische Behandlung mit Thiosulfat die Widerstandskraft der Mäuse gegen eingeatmete Blausäure verstärkt. Es schien daher angezeigt, auch diese Art der Behandlung zu prüfen und die durch sie erzielten Ergebnisse mit denen zu vergleichen, die sich herausstellten, wenn Mäuse entweder nicht oder nach der Vergasung behandelt wurden.

Im einzelnen wurde, wie folgt, verfahren. Eine Anzahl Mäuse wurde in drei gleich große Gruppen eingeteilt und zwar so, daß das durchschnittliche Gewicht in den drei Gruppen annähernd gleich groß war. Alle Tiere wurden unter 0,1 Vol.$^0/_0$ Blausäure gebracht, und zwar alle gleich lang, nämlich 3 Minuten 30 Sekunden. Tiere, die bei dieser Dosierung starben, wurden durch neue ersetzt. Das geschah, um durch Ausschaltung extrem schwacher Tiere eine gewisse Gleichartigkeit derselben hinsichtlich ihrer Widerstandskraft gegen Blausäure zu erzielen. Von den drei Gruppen umfaßte die erste solche Tiere, die unbehandelt blieben, die zweite solche, die vor der Vergasung, und die dritte solche, die nach derselben mit Thiosulfat behandelt wurden. Das Mittel wurde stets in der Dosis von 0,003 g pro Gramm Körpergewicht intraperitoneal verabreicht. In der folgenden Tabelle IV sind die Werte, die sich in den drei Gruppen ergaben, nebeneinandergestellt. U bedeutet unbehandelt, V vorbehandelt und N nachbehandelt. Um die Versuchstiere

während der Vergasung genau beobachten zu können, wurden immer nur drei von ihnen, und zwar von jeder Gruppe je eines, unter den Rezipienten gebracht.

Tabelle IV.

Nr. der Maus	U-Gruppe		V-Gruppe		N-Gruppe		Bemerkungen
	Gewicht g	Erholungszeit	Gewicht g	Erholungszeit	Gewicht g	Erholungszeit	
1	12	6′ 30″	13,5	0′ 00″	12,5	2′ 15″	
2	11	15′ 15″	12	2′ 00″	14	3′ 40″	
3	11	12′ 00″	11	0′ 20″	12	3′ 50″	
4	11	4′ 15″	11	2′ 00″	14	0′ 00″	
5	10	8′ 30″	15	0′ 00″	14	3′ 45″	
6	18	1′ 00″	12	0′ 00″	12	2′ 15″	
7	12	5′ 30″	12	0′ 30″	12	3′ 00″	
8	13	7′ 30″	15	1′ 10″	14	4′ 50″	Maus 8 N 0,20 ccm $Na_2S_2O_3$ ausgepreßt
9	14	2′ 30″	11	0′ 00″	16	0′ 00″	
10	11	5′ 30″	11	0′ 00″	12	4′ 40″	

Das Gesamtgewicht in jeder der drei Gruppen war, wie die Tabelle zeigt, ungefähr gleich; es stellt sich auf 123 g durchschnittlich in der U-Gruppe (= 12,3 g durchschnittlich für jede Maus), 123,5 g in der V-Gruppe (= 12,35 g durchschnittlich) und 132,5 g in der N-Gruppe (= 13,25 g durchschnittlich). Werden nun die Erholungszeiten zunächst innerhalb ein und derselben Gruppe verglichen, so fallen die großen individuellen Unterschiede auf, so z. B. bei Maus 2 und Maus 6 oder Maus 3 und Maus 9 in der U-Gruppe; ferner bei Maus 4 und Maus 10 in der N-Gruppe. Am gleichmäßigsten verhalten sich die Tiere in der V-Gruppe. Auch der Vergleich der Erholungszeiten der drei Gruppen untereinander ergibt beträchtliche Unterschiede, selbst dann, wenn jedesmal nur die drei Tiere ins Auge gefaßt werden, die zusammen unter Blausäure gebracht wurden. In fast allen Fällen ist die Erholungszeit des unbehandelten Tieres am größten, die des vorbehandelten am kleinsten; hiervon machen nur die drei Mäuse Nr. 4 eine Ausnahme, von denen die nachbehandelte die kleinste Erholungszeit aufweist[1]). Tritt schon bei derartiger Betrachtung deutlich hervor, daß dem Thiosulfat die Kraft eignet, entgiftend auf eingeatmete Blausäure zu wirken, so wird dies über jeden Zweifel erhoben, wenn nun aus der Summe der Erholungszeiten jeder Gruppe die arithmetischen Mittel gewonnen und miteinander verglichen werden. Dann ergibt sich nämlich, daß die durchschnittliche Erholungszeit für unbehandelte Mäuse 6 Min. 57 Sek. beträgt, für vorbehandelte 0 Min. 36 Sek. und für nachbehandelte 2 Min. 50 Sek. Diese drei Werte verhalten sich etwa wie 1 : 5 : 12. Braucht also die vorbehandelte Maus, um sich zu erholen, 1 Minute, so bedarf

[1]) Solche Unregelmäßigkeit ist wegen der großen individuellen Unterschiede in der Empfindlichkeit der Mäuse gegen Blausäure zu erwarten.

die nachbehandelte 5 und die unbehandelte 12 Minuten dazu. Die präventive Thiosulfatbehandlung bewirkt mithin, daß sich eine durch Blausäure vergiftete Maus 12 mal schneller erholt als eine solche, die auf ihre natürlichen Hilfskräfte angewiesen ist. Demgegenüber erweist sich die nachträgliche Behandlung als erheblich weniger wirksam; sie verkürzt die Erholungszeit durchschnittlich nur um das 2,4 fache des Zeitraumes, der ohne Behandlung erforderlich ist.

Bei einer zweiten Versuchsreihe, über deren Einzelheiten Tabelle V einen Überblick gibt, verschieben sich die Werte nur wenig. Die Mittel

Tabelle V

Nr. der Maus	U-Gruppe		V-Gruppe		N-Gruppe		Bemerkungen
	Gewicht g	Erholungszeit	Gewicht g	Erholungszeit	Gewicht g	Erholungszeit	
1	14	6′ 30″	16	0′ 00″	12,5	1′ 40″	
2	11	5′ 20″	12	2′ 10″	14	2′ 00″	
3	11	3′ 30″	11	0′ 00″	14,5	4′ 00″	
4	17	5′ 50″	11	1′ 00″	14	0′ 00″	
5	10	3′ 40″	15	0′ 00″	14	1′ 30″	
6	18	0′ 00″	12	0′ 00″	17	0′ 00″	
7	12	3′ 00″	12	0′ 00″	18	1′ 05″	
8	13	0′ 50″	15	0′ 00″	13,5	3′ 05″	
9	17	9′ 30″	15	1′ 10″	16	0′ 00″	
10	11	0′ 30″	17	0′ 00″	12	1′ 00″	

aus den Summen der Erholungszeiten in jeder der drei Gruppen sind 3 Min. 52 Sek. für die nichtbehandelte, 0 Min. 26 Sek. für die vorbehandelte und 1 Min. 26 Sek. für die nachbehandelte Maus. Danach stellt sich das Verhältnis der drei durchschnittlichen Erholungszeiten wie 1 : 3 : 9. Die Vorbehandlung wirkte hier also etwas weniger günstig, die Nachbehandlung dagegen um ein geringes günstiger als in der ersten Versuchsreihe. Werden die Ergebnisse beider Versuchsreihen zusammengezählt, so werden folgende Durchschnittswerte erhalten:

bei Vorbehandlung mit Thiosulfat erholt sich die Maus in 0 Min. 31 Sek.
bei Nachbehandlung „ „ „ „ „ „ „ 2 „ 8 „
ohne Behandlung „ „ „ „ „ „ „ 5 „ 25 „

Die Erholungszeiten der drei Gruppen verhalten sich demnach wie 1 : 4 : 10.

Das Ergebnis dieser Versuche spricht eine deutliche Sprache. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß Natriumthiosulfat die Eigenschaft besitzt, auf eingeatmete Blausäure entgiftend zu wirken. Ganz besonders macht sich das geltend, wenn das Mittel prophylaktisch angewandt wird. Der Schutz, den es dabei verleiht, ist sehr kräftig. Die therapeutische Verwendung des Thiosulfats bietet demgegenüber

nicht so günstige Aussichten, steigert aber immerhin die Kraft des Organismus, sich des Giftes zu erwehren, um ein Beträchtliches.

Das Gesagte gilt zunächst nur für die Maus und nur bei Einhaltung der Versuchsbedingungen, wie sie hier zugrunde gelegt wurden. Es fragt sich nun, inwieweit die gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen bezogen werden können. Um auf diese Frage eine begründete Antwort zu geben, wäre es vor allem nötig, durch eine Reihe weiterer Versuche die Wirkung des Natriumthiosulfates auf den Menschen gründlicher zu prüfen, als es bisher geschehen zu sein scheint. Solche Versuche hätten zunächst die Wirkung von Thiosulfat auf das Blut (Hämolyse) festzustellen. Sodann wäre zu untersuchen, ob Nerv und Muskel durch sie beeinträchtigt oder geschädigt werden. Schließlich müßte geprüft werden, in welchen Mengen die physiologische Lösung des Salzes vertragen wird und ob die Injektion großer Mengen derselben schädigend auf den Organismus wirkt. Die letztgenannten Untersuchungen würden zweckmäßig zunächst an großen Tieren (Kaninchen und Hunden), gegebenenfalls aber auch am Menschen selbst auszuführen sein. Sie sind deshalb von besonderer Wichtigkeit, weil sie Auskunft darüber geben würden, welche Menge Natriumthiosulfat in den Körper des Menschen eingeführt werden kann. Die praktische Anwendung müßte dann zeigen, ob diese Menge genügt, um eine wirksame Entgiftung eingeatmeter Blausäure beim Menschen herbeizuführen.

Fielen diese Untersuchungen günstig aus, so wäre ein nicht geringer Fortschritt erzielt, insofern durch geeignete Anwendung des Natriumthiosulfats das mit der Ausführung von Blausäurevergasungen betraute Personal wirksamer geschützt werden könnte, als es bisher möglich war, und die Zahl der Unglücksfälle verringert werden würde. Damit würde dem immer wieder erhobenen und nicht unberechtigten Einwand, daß mit dem Blausäureverfahren eine nicht unbeträchtliche Gefährdung menschlichen Lebens verbunden sei, ein Teil seiner Kraft genommen. Die Anwendung in der Praxis würde sich verhältnismäßig einfach gestalten. Da ein Arzt nicht immer sofort zur Stelle sein wird, ließe sich denken, daß unter dem die Vergasung ausführenden Personal stets ein Mann vorhanden wäre, der die Technik der Einspritzung beherrschte. Geeignete Leute zu

finden, die das lernen könnten, dürfte keine Schwierigkeit machen. Im allgemeinen wird es sich um therapeutische Behandlung Vergifteter handeln. Doch könnte auch an eine Prophylaxe gedacht werden. Daß dem präventiv gegebenen Mittel eine besonders starke entgiftende Wirkung zukommt, geht aus den mitgeteilten Versuchen hervor. Die Erfahrung lehrt nun, daß solche Personen, die häufig Blausäurevergasungen auszuführen haben, nicht selten unter einer sich steigernden Empfindlichkeit gegen das Gift zu leiden haben. Würde solchen vor dem Beginn der Gasentwicklung prophylaktisch eine Injektion gemacht, so dürfte ihre Widerstandskraft gegen das Gift erheblich gesteigert werden. Und das würde auch dann wünschenswert sein, wenn bei den Vergasungsarbeiten der Sauerstoffapparat ausgiebig zur Verwendung kommt. Werden nämlich große Mengen Cyanwasserstoff erzeugt, wie es in der Praxis meist der Fall sein dürfte, so ist es selbst bei Verwendung dieses Apparates fast unvermeidbar, daß nicht unbeträchtliche Quantitäten davon den Weg in den Körper finden. Die dadurch bedingten recht unangenehmen subjektiven Erscheinungen könnten vielleicht auf diese Weise, wenn nicht ganz ausgeschaltet, so doch erheblich verringert werden. Würde es so gelingen, S. Langs Entdeckung von der entgiftenden Wirkung des Natriumthiosulfates auf Blausäure für die Praxis fruchtbar zu machen, so würde dem Blausäureverfahren viel von dem Odium genommen, das seiner Verwendung heute noch häufig hindernd im Wege steht.

* * *

Diese Arbeit war bereits in Druck gegeben, als den Verfassern die Dissertation von Fritz Schankies, „Beiträge zur experimentellen Therapie der Blausäurevergiftung“ (40 S., 1918), die aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. hervorgegangen ist, zugänglich wurde. Schankies hat unter anderen Mitteln auch Natriumthiosulfat als Antidot gegen gasförmige Blausäure angewandt. Seine mit weißen Ratten ausgeführten Versuche (S. 29f.) sprechen gleich den hier veröffentlichten dafür, daß Natriumthiosulfat weitgehenden Schutz „gegenüber der Einatmung gasförmiger Blausäure gewährt“.

Chemische Studien zur Physiologie und Pathologie. VI.

Zur Biochemie der Oxydationen. (Zellatmung; Oxydationsfermente; zur Theorie der Narkose.)

Von

E. Herzfeld und **R. Klinger.**

(Aus dem chemischen Laboratorium der medizinischen Klinik und aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 25. November 1918.)

Wir haben in unserer vorhergehenden Arbeit die allgemeinen physikalisch-chemischen Gesetze besprochen, die für den Aus- und Eintritt von Stoffen in die Zellen Geltung haben müssen, insofern dieselben aus teils kolloidgelöstem, teils zu gröberen Komplexen (Stroma) vereinigtem und von einer Membran umgebenem Eiweiß bestehen. In einer Reihe weiterer Untersuchungen möchten wir uns mit verschiedenen Einzelproblemen des Zellstoffumsatzes beschäftigen, die uns tiefer in das Verständnis der „Lebensvorgänge" führen werden. Als erstes hierhergehöriges Problem sei in dieser Mitteilung die Atmung behandelt, d. h. jener Teil des Gasaustausches, der die Sauerstoffökonomie der Organismen betrifft.

Nur auf wenigen Gebieten der Biologie haben vitalistische Vorstellungen bald bewußt, bald unbewußt eine größere Rolle gespielt und eine klare Erfassung der einzelnen Vorgänge, ja selbst die Ausbildung zweckmäßiger Methoden in gleicher Weise gehemmt wie bei der Atmung. Die auch für den Laien so sinnfällige Verknüpfung von Atmung und Luftbedarf mit der Dauer und Möglichkeit des Lebens dürfte neben uralten Vorstellungen vom „Lebenshauch" die Erklärung hierfür bieten. Obwohl die Chemie der Oxydationen an einem außerordentlich

umfangreichen Material erforscht ist, hat die Biologie nur selten den Versuch gemacht, diese Erfahrungen für ihr Gebiet direkt zu verwerten. Man war von Anfang an der Überzeugung, daß es sich bei der Atmung um besondere, bloß der „lebenden" Zelle eigene Stoffe und Vorgänge handeln müsse, die nur mit möglichst frischen Zellsäften oder Zellemulsionen, besser noch am lebenden oder „überlebenden" Tiere selbst studiert werden könnten. Da die so gefundenen Gesetzmäßigkeiten einer einfachen Deutung nicht zugänglich waren, sah man sich gezwungen, eine Menge spezieller Begriffe zu erfinden. Es wurden namentlich fermentartige (d. h. nicht näher bekannte) Sauerstoffüberträger postuliert wie Oxydasen, Peroxydasen, Katalasen, Oxygenasen, Acceptoren usw. Wie immer ergab sich aber, daß damit nur ein scheinbarer Fortschritt erzielt wurde und anstatt der erhofften Klärung eigentlich nur eine komplizierte Terminologie und ein Berg von Fachliteratur zustande kam, eine Feststellung, die ja leider auf manchem Einzelgebiet unserer Wissenschaft in den letzten Jahrzehnten gemacht wurde und die wohl immer beweist, daß die Grundlagen unzureichend oder unrichtig waren.

Gemäß unserer Überzeugung, daß alle biologischen Phänomene auf rein chemische oder physikalische Gesetze zurückgeführt werden müssen, schien es uns angezeigt, von den einfachen und bekannten Oxydationsvorgängen auszugehen und zu versuchen, von hier aus ein Verständnis für das Komplizierte und scheinbar Unzugängliche der lebenden Zelle zu gewinnen.

Wir stellten uns daher zunächst die Frage, in welchem Maße und unter welchen Bedingungen die biologisch wichtigen Stoffe auch ohne Mitwirkung von Zellen oxydiert resp. bis zu tiefen Produkten verbrannt werden können.

Wenn wir die bei den Lebensvorgängen unentbehrlichen Stoffe hinsichtlich ihrer Oxydierbarkeit betrachten, so läßt sich folgendes sagen: Die Eiweißkörper und ihre hohen Bruchstücke sind als solche nicht angreifbar, nicht sauerstoffempfindlich, wohl aber sind ihre niederen Bausteine, namentlich die Aminosäuren, hierzu befähigt. Bei Gegenwart von Alkali (Bicarbonaten) können sie mit Hilfe von aktivem O desamidiert werden, wobei zunächst Alkalisalze der entsprechenden Fettsäuren

neben NH_3 resp. $(NH_4)_2CO_3$ entstehen, ein Vorgang, der anscheinend bei den aliphatischen Aminosäuren leichter als bei den aromatischen stattfindet. Die Alkaliseifen gehören bereits zu den leicht oxydablen Stoffen. Wenn also angenommen wird, daß Eiweiß im Organismus verbrannt wird, so muß der Oxydation eine alkalische Hydrolyse desselben als Vorbereitung vorausgehen. Das gleiche gilt auch von den Neutralfetten und Lipoiden, die nur dann verbrannt werden, wenn im Körper die Möglichkeit zu ihrer Aufspaltung besteht. Die hierbei auftretenden fettsauren Salze und das Glycerin werden noch tiefer aufgespalten und ergeben hierbei sehr leicht mit O_2 reagierende Spaltstücke. Von den Kohlenhydraten gilt dasselbe, sie müssen aus den Poly- über Monosaccharide in niedere, saure Spaltstücke (Milch-, Ameisen- oder Oxalsäure usw.) oder deren Salze umgewandelt werden, um oxydabel zu sein.

Ganz allgemein gilt somit für den Organismus wie für die Oxydation in vitro der Satz, daß nicht die hochsynthetisierten Stoffe wie Eiweiß, Fette, Polysaccharide als solche den Oxydationen anheimfallen, sondern nur deren tiefe Spaltstücke, die durch alkalische oder elektrolytische Hydrolyse entstehen. Diese Forderung, die schon von verschiedenen Forschern erkannt und mehr oder weniger deutlich ausgesprochen wurde, ist geradezu eine Notwendigkeit; denn es wäre für den unter aeroben Bedingungen lebenden Organismus unmöglich, gegenüber dem allgegenwärtigen O_2 zu bestehen, wenn derselbe sich mit allen Zellbestandteilen verbinden könnte; die Zelle entzieht sich vielmehr seinem Einfluß, indem sie das relativ leicht oxydable Material, aus dem sie sich aufbaut, zu solchen Verbindungen synthetisiert, die nicht mehr oxydabel sind[1]).

Über die Verbrennbarkeit einzelner niederer organischer Stoffe geben folgende Werte Auskunft, die bloß als Beispiele aus einer größeren Anzahl ähnlicher Versuche angeführt seien. Es wurde hierbei so vorgegangen, daß durch eine wäßrige Lösung des betreffenden Stoffes CO_2-freie Luft in langsamem, kontinuierlichem Strome (bei Zimmertemperatur) durchgeleitet

---

[1]) Ihre Verbrennbarkeit bei höheren Temperaturen beruht natürlich auf vorherigen, durch die Hitze bedingten Spaltungen.

und diese in einer Vorlage mit $Ba(OH)_2\left(\frac{n}{10}\right)$ aufgefangen wurde. Nach meist 12-stündiger Luftdurchleitung wurde hierauf die Bariumlösung nochmals titriert und daraus die abgegebene CO_2-Menge bestimmt.

Die Zahlen bedeuten mg CO_2:

20 ccm	0,1 % ige Citronensäure . . .	2,6 mg
20 „	Milchsäure	3,9 „
20 „	Bernsteinsäure	3,0 „
20 „	0,1 % ige Na-Citratlösung . .	3,0 „
20 „	„ Na-Lactatlösung . .	6,6 „
20 „	0,1 % iges bernsteinsaures Na .	3,4 „
2 g	Traubenzucker in Wasser . . .	0,0 „
2 g	„ + 1 ccm 33 % iges NaOH, nach ½ stünd. Stehen neutralisiert und für den Versuch verwendet .	0,9 „
2 g	Traubenzucker, wie vorher mit Lauge versetzt, kurz aufgekocht, dann neutralisiert und verwendet	37,2 „
20 ccm	1 % iges Glycerin	6,6 „
20 „	„ Glykokoll	3,4 „

Wir sehen somit, daß schon in bloßem O_2-gesättigtem Wasser von niederen Fett- oder Oxyfettsäuren merkliche Mengen zu CO_2 und H_2O verbrannt werden können.

An Einzelheiten sei auf die Beobachtung verwiesen, daß die organischen Säuren in der Regel besser in Form von Salzen als als freie Säure oxydiert werden. Zucker selbst ist ganz unoxydabel, verfällt aber leicht einer Verbrennung, wenn er durch Alkali aufgespalten wurde.

Nachdem wir somit festgestellt haben, welche allgemeine Bedingungen von seiten der zu oxydierenden Stoffe erfüllt sein müssen, damit sie im Organismus verbrannt werden können, wenden wir uns zur Frage, wie der Sauerstoff beschaffen sein muß, damit er für derartige Verbindungen geeignet sei, eine Frage, die mit jener nach der sog. „Aktivierung" des O_2 identisch ist.

Der Sauerstoff der Luft ist in trockenem Zustande bei gewöhnlicher Temperatur für Oxydationen wenig geeignet, nur sehr stark O-affine Körper verbinden sich mit ihm. Im Wasser

wird er zunächst wie andere Gase „absorbiert", d. h. er verteilt sich, seinem Partialdruck entsprechend, zwischen den Wassermolekülen. Dabei bleibt es aber keineswegs; die bekanntlich sehr ungleiche „Absorbierbarkeit" verschiedener Gase im Wasser (z. B. N_2 einerseits, NH_3 andererseits) beweist ja zur Genüge, daß hier nicht eine bloße Verteilung, sondern eine Lösung, d. h. chemische Bindung vorliegen muß. Diese Verbindung stellen wir uns ganz analog den Lösungen fester Stoffe vor, entstanden dadurch, daß ein O_2-Molekül mit einem oder mehreren H_2O-Molekülen zu Komplexen locker vereinigt wird. Damit ist zunächst noch keine wesentliche Veränderung im Verhalten des O_2 gegeben, auch dieser O_2 ist zum größten Teile inaktiv, wenn auch ein gewisser Unterschied gegenüber trockenem O_2 deutlich hervortritt (s. u.).

Daß feste Stoffe in der Hitze besser wasserlöslich sind, sich also besser mit Wasser verbinden, während Gase bei höherer Temperatur schlechter gebunden werden, ist kein Widerspruch zu dieser Auffassung der Absorption, sondern erklärt sich aus der Eigenart der betreffenden Stoffe, speziell aus der „Flüchtigkeit" der Gasteilchen; diese besteht darin, daß ihre Moleküle bei höherem Energiegehalt rasch geradlinige Bewegung annehmen und sich daher aus allen lockeren Verbindungen losreißen und entweichen. Die bei gewöhnlicher Temperatur flüssigen oder festen flüchtigen Stoffe wie Alkohol oder Kampfer verhalten sich darin wie die Gase und beweisen, daß hier kein prinzipieller Unterschied vorliegt.

Auch der O_2 wird im Wasser in Form von Molekülverbindungen gelöst, die sich durch folgendes Schema darstellen lassen: $H_2O \cdot O = O \cdot OH_2$. Die beiden O-Atome sind hier noch mit ihren beiden Valenzen verbunden. Anders verhält es sich dagegen in der zweiten bekannten Verbindung von Wasser und O, dem Wasserstoffsuperoxyd. Man hat die Konstitutionsformel des H_2O_2 bisher in der Regel als

$$\begin{array}{c} H - O \\ | \\ H - O \end{array}$$

geschrieben, diejenige des Ozons analog als

$$\begin{array}{c} O \\ \diagup \diagdown \\ O - O \end{array}.$$

Diese können aber unmöglich richtig sein, weil sie nicht zum Ausdruck bringen, daß ein O-Atom (welches?) lockerer gebunden und leichter entfernbar (reaktionsfähiger) ist; nach diesen Formeln müßte der O dieser Körper vollständig abgesättigt und eigentlich ebenso gebunden sein wie z. B. im Wasser, wo es nur durch besondere

Verfahren gelingt, ihn frei zu machen. Es muß vielmehr, um das abweichende Verhalten dieser Stoffe zu erklären, angenommen werden, daß das zweite O-Atom mit einer Art von Nebenvalenz gebunden ist; um dies auch in den chemischen Symbolen auszudrücken, müßte folgende Formulierung gewählt werden[1]:

$$\begin{matrix}H\\H\end{matrix}\!\!>O\cdots O \overset{\cdots}{=} O\cdots O<\!\!\begin{matrix}H\\H\end{matrix}.$$

Es wären somit zwei Wassermoleküle durch ein O_2-Molekül verbunden, wobei die seitlichen Bindungen des O_2-Kernes an das Wasser bereits zu einer Lockerung der die beiden O-Atome vereinigenden Valenzen geführt haben (im Schema als $\overset{\cdots}{=}$ angedeutet). Dieser Art der Bindung entspricht die relativ größere Reaktionsfähigkeit des H_4O_4, die diesem Körper jedoch nicht im unzersetzten Zustande, sondern erst bei seiner Aufspaltung zukommt. Diese kann auf zweierlei Weise zustande gebracht werden: dadurch, daß von einem dritten Stoff entweder das H_2O oder der O_2 an sich gerissen wird. Was die erste Möglichkeit betrifft, so war zu erwarten, daß alle Stoffe, die zu Wasser große Affinität haben, zu einer Zersetzung einer H_4O_4-Lösung führen müssen. Dies ist in der Tat der Fall und läßt sich am schönsten durch Einbringen von geglühten $CaCl_2$ oder einem Stück Metaphosphorsäure demonstrieren. Es kommt zu einer bei $CaCl_2$ geradezu stürmischen, bei HPO_3 langsameren, aber längs der ganzen Oberfläche deutlichen Entwicklung von O_2-Gasbläschen. Setzen wir gleichzeitig eine oxydable Substanz, z. B. Pyrogallol, zu, das von H_4O_4 allein nur sehr wenig verändert wird, so tritt in wenigen Sekunden Schwarzbraunfärbung ein. Wir haben hier somit eine echte „katalytische" Wirkung vor uns, die auf nichts anderem als auf Wasserentziehung beruhen kann.

Zur zweiten Gruppe gehören alle Stoffe, die zu O_2 Affinität besitzen, z. B. fein verteiltes Platin, das schon an der Luft O_2 stark adsorbiert (locker bindet). Wenn wir solches Platin in eine H_4O_4-Lösung bringen, werden die O_4-Moleküle ihrer Verbindung mit dem Wasser entrissen und an die P-

[1]) Analog wäre das Ozon als $O_2\cdots O \overset{\cdots}{=} O\cdots O_2$ darzustellen.

Oberfläche adsorbiert, wo sie bei größerer Ansammlung in Form von Gasblasen entweichen. Auch hierbei findet eine leichtere Übertragung von O auf eventuell vorhandene oxydable Stoffe, z. B. Pyrogallol, statt, das nach einiger Zeit deutlich gebräunt wird; nur daß begreiflicherweise diese Oxydationen im Vergleich zu jenen oben erwähnten, bei welchen nicht der O_2, sondern das Wasser des H_4O_4 gebunden wurde, viel langsamer verlaufen.

In beiden Fällen darf angenommen werden, daß diese gesteigerte Oxydationsfähigkeit der H_4O_4-Lösung darauf beruht, daß die $^{\cdots}O\overset{\cdots}{-}O^{\cdots}$-Moleküle im Moment ihrer Lostrennung vom H_2O, eben weil sie lockerer als im gewöhnlichen Molekül aneinander gebunden sind, besser reaktionsfähig sind. Ist kein oxydabler Stoff zugegen, so vereinigen sie sich wieder vollwertig zu inaktiven Molekülen $(O=O)$ und verlieren die Eigenschaft des „status nascendi“. Zur typischen Peroxyd-Oxydation ist neben H_4O_4 und oxydablem Stoff noch der das Peroxyd spaltende Körper, der sog. „Katalysator“ (oder die „Peroxydase“) erforderlich.

Es ist nun wahrscheinlich, daß der im Wasser gelöste gewöhnliche O_2 der Luft in ganz geringer Menge in eine superoxydartige Bindung übergeht und dadurch aktiv wird. Wir möchten annehmen, daß hierbei die Dissoziation des Wassers eine Rolle spielt, und daß es nicht eigentlich die H_2O-Moleküle, sondern die vereinzelt vorhandenen OH-Ionen sind, die das O_2-Molekül, indem sie sich mit ihm verbinden, in seinem Gefüge lockern:

$$\dot{}HO^{\cdots\cdots}O\overset{\overline{\cdots\cdots}}{}O^{\cdots\cdots}OH\dot{} \quad \text{oder} \quad \dot{}HO^{\cdots\cdots}O\overset{\overline{\cdots\cdots}}{}O^{\cdots\cdots}O\langle{}^{H}_{H}\,.$$

Auf diese Umwandlung der gewöhnlichen O_2-Molekülverbindung dürfte die relativ stärker oxydierende Wirkung beruhen, die dem in Wasser gelösten O_2 gegenüber dem trockenen O_2 zukommt[1]). Vor allem bietet uns diese Annahme aber ein Verständnis für eine Grundtatsache der Oxydationschemie, die bisher theoretisch nur ungenügend beachtet wurde: Daß es nämlich für die meisten Oxydations-

---

[1]) Hiermit dürfte auch die Beobachtung zusammenhängen, daß Kohle in ganz trockenem O_2 auch bei hoher Temperatur nicht verbrennt (Abegg, Handb. d. anorg. Chem. III, 2, 1909.

prozesse günstig ist, wenn das Medium, in dem sie ablaufen, alkalisch ist. Handelt es sich hierbei um Oxydationen höher zusammengesetzter, organischer Stoffe, so wirkt das Alkali freilich auch meist dadurch, daß es die Aufspaltung derselben in niedere, leichter oxydable Körper befördert (z. B. bei der Verbrennung von Zucker, Eiweiß usw.). Damit ist aber seine Wirkung nicht erschöpft, und bei nicht hydrolysierbaren Stoffen, z. B. Pyrogallol, ist die Bedeutung des freien Alkali[1]) wohl nur darin zu suchen, daß es die Aktivierung des O_2 fördert; denn die an ein oder zwei OH-Ionen gebundenen O_2-Moleküle sind für Verbindungen mit oxydablen Stoffen besser geeignet.

Als Beispiel für die eben besprochenen Vorgänge der O_2-Aktivierung verweisen wir auf die Versuche Jobs[2]) über Cersalze als Oxydationsvermittler. Während $KAsO_3$ in K_2CO_3-haltiger Lösung beim Schütteln an der Luft nicht wesentlich oxydiert wird, gelingt dies leicht, wenn Cerosalz zugegeben ist. Es entsteht intermediär Cerperoxydsalz (also gelockerter O_2), von dem nun die arsenige Säure unter Bildung von Cerisalz den O abnimmt und oxydiert wird. Für den Biologen noch interessanter sind die Versuche mit Traubenzucker, der auf die gleiche Weise (ebenfalls bei Gegenwart von Alkali!) verbrannt werden kann. Hierbei werden die Cerosalze, nachdem sie in Peroxydsalze übergegangen waren und als O_2-Spender funktioniert haben, wieder in Cerosalze, also in ihre ursprüngliche Form reduziert und spielen somit die Rolle von regelrechten „Oxydationsfermenten“, die bei der Reaktion nicht verbraucht werden. Ähnlich verläuft ferner die Oxydation von Dextrose durch Indigoschwefelsäure in alkalischer Lösung (M. Traube) u. a.

Ein weiteres Beispiel für die Rolle der OH-Ionen bei Oxydationen dürften die Vorgänge an der Kathode bei der Elektrolyse des Wassers bieten. Die sich hier ansammelnden OH-Ionen liefern bei ihrer Entladung H_2O und O_2, wobei namentlich als Zwischenstufen Komplexe von $O \cdots O$ mit OH-Ionen sowie wasserstoffsuperoxydartige Vereinigungen auftreten, die zu aktivem O_2 und daher zu der bekannten Oxydationsfähigkeit der Kathode führen.

---

[1]) D. h. Alkali im Überschuß; bei bloßer Neutralisation des schwach sauren Pyrogallol wird dieses noch nicht leicht oxydabel.

[2]) C. R. Acad. Scienc. 134, 136; Ann. chim. et phys. 7ième série 20.

Ein anderes Moment, das zu einer Aktivierung des O_2 führen kann, ist die Adsorption desselben an gewisse Stoffe.

Die Adsorption wird in der Regel als eine Verdichtung des adsorbierten Stoffes an der Oberfläche des adsorbierenden aufgefaßt und einer besonderen Kraft zugeschrieben. Man ist der Ansicht, daß die chemische Natur des Adsorbens weitgehend gleichgültig sei und nur die Größe und Form der Oberfläche neben der „Adsorbierbarkeit“ des Gases (oder gelösten Stoffes) von Belang sei. Wir möchten demgegenüber entschieden für die Ansicht eintreten, daß auch für diese Erscheinung in erster Linie chemische Affinitäten bestimmend sind und daß z. B. Holzkohle nicht deshalb so gut adsorbiert, weil sie eine sehr große, sondern weil sie eine mit relativ großen chemischen Affinitäten ausgestattete Oberfläche besitzt. Diese Affinitäten sind meist nicht so groß, daß sie zu eigentlichen chemischen Verbindungen mit dem adsorbierten Stoff führen. Darum wird der letztere in der Regel nur locker („als Molekülverbindung“) gebunden, und da jede Verbindung immer dort stattfindet, wo ein Stoff freiliegt, so werden an festen Körpern nur dann größere Quantitäten adsorbiert werden, wenn eben die Oberfläche (= reagierende Masse) groß ist. Diese Forderungen bestimmen die Natur der als gute Adsorbentien bekannten Körper, nämlich ausgesprochene, wenn auch nicht allzu lebhafte chemische Affinitäten bei großer Oberfläche (feiner Verteilbarkeit).

Wir müssen die nähere Erörterung dieses Gegenstandes einer folgenden Arbeit vorbehalten und möchten nur hervorheben, daß die bekannten Gesetze der Adsorption auch bei einer ins einzelne gehenden Prüfung mit dieser rein chemischen Auffassung des Vorganges sehr wohl vereinbar sind. Hier sollen uns nur die Folgerungen beschäftigen, die sich daraus für die O_2-Adsorption und ihre Beziehung zur Aktivierung dieses Stoffes ergeben. Auch der O_2 wird in den Organismen nicht nur gelöst, sondern er trifft daselbst auf zahlreiche Oberflächen, die ihn aus der Lösung auf Grund größerer chemischer Affinitäten an sich ziehen, ihn „adsorbieren“. Es ist nun wahrscheinlich, daß auch hierbei eine Lockerung des O_2-Moleküls zustande kommt, analog derjenigen, die wir oben für die Bindung desselben im Peroxyd

oder an OH-Ionen postuliert haben. Indem der adsorbierende Stoff das O_2-Molekül mit Nebenvalenzen locker an sich bindet, vermindert er die gegenseitige Anziehung der O-Atome (X····O—O····X); diese werden dadurch in eine der Peroxydbindung ähnliche, für Verbindungen mit anderen Stoffen besonders geeignete Form übergeführt. So werden Stoffe, die direkt mit ungelöstem O_2 nicht reagieren, in den Stand gesetzt, sich mit diesem adsorbierten O_2 zu verbinden, indem sie denselben dem Adsorbens wieder entziehen. Der Übergang vom O_2-Molekül zum gebundenen Atom findet in zwei Stufen und darum leichter statt.

Zu derartigen Aktivierungen scheinen im Innern der Zellen vor allem die Oberflächen der Lipoide (vielleicht auch mancher Eiweißkörper) geeignet zu sein, und wir möchten schon hier darauf hinweisen, daß hierin eine der wichtigsten Aufgaben der so verbreiteten Lipoide bestehen dürfte. Geeignet werden sie zu diesem Zwecke durch ihre relative Unlöslichkeit in Wasser, wodurch Grenzflächen im Zellinnern geschaffen werden, und durch eine gewisse O_2-Affinität, für die verschiedene chemische Tatsachen sprechen.

Daß gut adsorbierende Stoffe in der Tat Oxydationsprozesse beeinflussen, läßt sich auch in vitro leicht nachweisen. Setzt man bei der oben beschriebenen Versuchsanordnung der zu oxydierenden Lösung etwas Tierkohle zu (je 0,1 g), so ergeben sich stets größere CO_2-Werte, die oft sogar das Doppelte des Kontrollversuches (ohne Kohle) erreichen. Wir geben als Beispiele einige Resultate:

Milchsäure 1,0 ccm, Luftdurchleitung 12^h, CO_2-Menge 3,4 mg, dto. mit Tierkohle: 6,2 mg; milchsaures Na ohne Kohle: 5,6, mit Kohle 6,8. In einem anderen Versuch (andere Konzentration) ohne Kohle 11,7, mit Kohle 19,2 mg, Oxalsäure 50 ccm ohne Kohle 3,2, mit Kohle 19,5 mg. Na-Citrat 0,6, mit Kohle 1,8 mg.

Die Ausschläge sind sehr ungleich und hängen nicht nur von der Natur des verbrennenden Stoffes, sondern auch von der Konzentration der Lösung ab.

Die Affinität zwischen adsorbierendem (locker bindendem) Stoff und O_2 ist natürlich keine konstante Größe, und dementsprechend dürfte auch die damit gegebene Auflockerung des O_2-Moleküls eine bald stärkere,

bald schwächere sein. Es wäre daher unrichtig, wollte man unter „aktivem O_2“ nur einen O_2 von jeweils derselben Oxydationsfähigkeit (Neigung zur Verbindung) denken; es wird sich hierunter vielmehr (je nach der Festigkeit der Bindung) eine ganze Anzahl von Aktivierungsstufen vorfinden, um so mehr, als für das Oxydationsvermögen nicht nur die Auflockerung der intramolekularen Bindung des O_2, sondern auch die Festigkeit, mit der das Adsorbens seinerseits den O_2 an sich hält, von Belang sein dürfte.

Wir haben im vorhergehenden die beiden wichtigsten Faktoren näher kennen gelernt, die für den Ablauf von Oxydationen in Betracht kommen: die Aktivierung des O_2 und die Bildung niederer sauerstoffaffiner Spaltprodukte. Für die erstere ist die Auflockerung der O_2-Moleküle infolge leichter chemischer Bindung entscheidend (peroxydartige Bindung an OH-Ionen, Adsorption an O-affine Oberflächen); hierdurch wird eine Zwischenstufe geschaffen, von der aus der $O_2(O \overline{\cdots} O)$ für Atomverbindungen leichter zugänglich ist. Für die Bildung niederer Spaltprodukte aus hoch zusammengesetzten, nicht oxydablen Stoffen sind hydrolytische Aufspaltungen derselben unter Beteiligung von OH-Ionen von Belang.

Mit diesen z. T. freilich noch hypothetischen, aber wohl kaum gekünstelten Vorstellungen, für deren Richtigkeit viele Tatsachen der Oxydationschemie sprechen, ist zugleich eine Grundlage gegeben, die ein Verständnis der in den lebenden Organismen ablaufenden Oxydationsprozesse, d. i. der Atmung, ermöglicht. Denn die eben besprochenen Bedingungen sind ja durchgehend in den Zellen realisiert, wo wir stets neben O_2 Wasser und OH-Ionen (bicarbonat-alkalische Reaktion des Protoplasmas) sowie O-adsorbierende Oberflächen, und andererseits niedere organische Verbindungen als Produkt der Autolyse und des Stoffwechsels antreffen. Es ist deshalb eine chemische Notwendigkeit, daß daselbst Oxydationen stattfinden, und sie werden stets in dem Maße sich abspielen müssen, als aktiver O_2 einerseits, oxydable Stoffe andererseits vorhanden sind. Diese beiden Momente bewirken die Regulierung der Atmungsgröße, für die somit nicht eine vitalistische Unbekannte, sondern einzig der Chemismus der Zelle in Frage kommt.

Die an aerobe Bedingungen angepaßten Lebewesen besitzen Einrichtungen, die den O_2 stets in genügender Menge allen Zellen zuführen, die O-Spannung der Gewebe ist daher dauernd eine genügend hohe, um Oxydationen zu ermöglichen. Die Größe des O-Verbrauches wird daher unter physiologischen Verhältnissen in erster Linie von der Menge niederer Spaltstücke abhängig sein, die in der Zelle oder im Zellkomplex auftreten. Diese ist ihrerseits bedingt durch den Stoffwechsel, speziell die Nahrungsaufnahme, die zum großen Teil niedere, leicht oxydable Stoffe der Zelle zuführt. Diese werden zwar schnell zu Synthesen verwendet und dadurch dem Einfluß des O_2 entzogen (wozu mit Vorteil relativ O_2-ärmere Organe [wie es z. B. die Leber wegen ihrer hauptsächlich venösen Blutversorgung ist,] herangezogen werden), z. T. aber verfallen sie einer Verbrennung, die sie für eine weitere Verwertung im Organismus unbrauchbar macht und für denselben daher (von der hierbei stattfindenden Wärmebildung abgesehen) einen Verlust bedeutet. Es sind deshalb für die aerob lebenden Zellen jene Nahrungsstoffe am vorteilhaftesten, die noch nicht so große Moleküle besitzen, daß sie die Membranen nicht mehr passieren können, die aber gleichwohl schon so hoch zusammengesetzt sind, um nicht mehr oxydabel zu sein [z. B. Traubenzucker im Gegensatz zu niederen Fettsäuren usw.[1])].

Im allgemeinen überwiegen in der Zelle synthetische Prozesse, und die Menge leicht oxydabler Körper ist daher gering. Bei verschiedenen Vorgängen, wie Autolyse von Sekreten (Vakuolen) oder ganzen Zellen, beim Keimen von Samen, bei der Befruchtung des Eies (O. Warburg) usw., namentlich aber als Folge der Nerventätigkeit finden hydrolytische (elektrolytische) Aufspaltungen höherer Stoffe (Kohlenhydrate, Lipoide usw.) statt, die oft in ganz kurzer Zeit größere Mengen derartiger, niederer Verbindungen auftreten lassen. Wir werden in der folgenden Mitteilung in der Muskeltätigkeit einen solchen Vorgang kennen lernen, und auch das Zentralnervensystem selbst ist anscheinend dauernd eine Bildungsstätte niederer

[1]) Selbst bei Aufnahme von Zucker seitens der Pflanzen tritt vermehrte CO_2-Ausscheidung, also teilweiser Verlust durch Spaltung und Oxydation ein.

Spaltprodukte. Ebenso wie im Muskel können in anderen Organen, speziell in Drüsen Hydrolysen unter dem Einfluß des Nervensystems erfolgen, die die Menge oxydierbarer Stoffe steigern. Es fehlt somit nicht an Ursachen, die im Organismus Material zur Atmung, d. h. zu Verbrennungen, zur Stelle schaffen, und die Menge und Natur der jeweils aufgespaltenen Stoffe ist es, die den Gasumsatz, den respiratorischen Quotienten, den Calorienverbrauch usw. bestimmen.

Für diese Vorgänge Atmungsfermente zu postulieren, dürfte nach dem eben Gesagten ebenso überflüssig erscheinen, als etwa die Annahme proteolytischer „Fermente“ für den Eiweißabbau, von Lipasen für die Fettspaltung usw. Derartige rein hypothetische Stoffe waren die Notbehelfe einer Epoche der Biochemie, deren Überwindung durch modernere Vorstellungen wohl jeder Fortschrittsfreund begrüßen wird. Wir möchten deshalb bei diesen Fermenten nicht lange verweilen und nur kurz angeben, wie einige derselben chemisch aufzufassen sind.

Die Oxydasen [„Fermente, die oxydable Substanzen in Gegenwart von molekularem O_2 oder anderen O-Quellen (Peroxyde) oxydieren“[1])], sind entbehrlich, da wir gesehen haben, daß sich nicht nur aktiver O_2 (das wäre Peroxyd-O_2), sondern selbst der gewöhnliche, in Wasser gelöste O_2 mit vielen niederen organischen Stoffen ohne weiteres verbindet. Wenn dies bei Gegenwart gewisser Zellextrakte usw. relativ besser von statten geht, so dürfte es genügen, auf die erwähnten Adsorptionsvorgänge und die damit zusammenhängende Aktivierung des O_2 hinzuweisen. Das gleiche gilt von den Oxydonen (nach Batelli und Stern labile O-Überträger, die infolge ihrer kolloiden Oberflächen wirken); es wird nicht verwundern, daß Eingriffe wie Alkoholfällung, Erhitzen auf 60°, ja oft schon bloße Wasserextraktion (wie beim „Zitrikoxydon“) die Oxydationsfähigkeit der betreffenden Zellen oder Extrakte zerstören, weil sie eben die chemische Struktur derselben beeinflussen. Wenn wir schon bei kolloidem Platin durch bloße Adsorption von Alkohol oder Urethan die O_2-Affinität und damit die katalytische Wirkung herabsetzen können, so werden hydrolytische oder andere Eingriffe, die in den Zellen vorhandene O_2-affine Oberflächen radikal verändern, natürlich um so deutlicher oxydationshemmend wirken. Wir verzichten, auf die Oxygenasen (Bach und Chodat), auf das Pnein (mit Wasser extrahierbare, alkali- und hitzebeständige, dialysierende Stoffe, die die „Hauptatmung“ der Gewebe verstärken, also vermutlich leicht oxydable Salze niederer Fettsäuren sind), auf das Antipneumin und ähnliche

---

[1]) Wir zitieren nach Abderhalden, Biochem. Handlexikon 3, 1916.

Begriffe näher einzugehen und verweisen auf die Arbeit von Batelli und Stern[1]), in der diese auf dem Gebiete gewiß gut bewanderten Autoren zu dem Schlusse kamen, daß die Existenz oxydierender Fermente sehr fraglich und der Mechanismus der Verbrennungen in den lebenden Zellen bisher unbekannt seien. Wir schließen uns dieser auch von anderen Forschern (v. Fürth, Warburg u. a.) geteilten Ansicht über diese Fermente rückhaltlos an, hoffen aber, mit unseren Ausführungen die chemische Natur der vitalen Oxydationen etwas geklärt und einer erfolgreicheren Bearbeitung zugänglich gemacht zu haben.

In einer neueren Mitteilung haben Willstätter und Stoll über die Reindarstellung einer „Peroxydase" aus Meerrettich berichtet (Liebigs Ann. d. Chem. 416), ein Fe-haltiges Glykosid, welches analog, aber noch stärker wie Hämoglobin H_4O_4 zersetzt. Es scheint uns nicht zweifelhaft, daß auch dieser Stoff ganz wie Pt oder Hämoglobin dadurch wirkt, daß er infolge chemischer Affinitäten (dank seinem Fe-Gehalt) O_2 adsorbiert und ihn dadurch der lockern Bindung im H_4O_4 entzieht. Die Atome verbinden sich hierauf mit beiden Valenzen zu gewöhnlichen O_2-Molekülen, die zu Gasblasen entweichen.

Auch die von Br. Bloch[2]) zur Erklärung der Pigmentbildung angenommene „Dopa-Oxydase" läßt sich auf einfache chemische Vorgänge zurückführen. Es handelt sich um ein mit Alanin substituiertes Dioxyphenol, das in vielen Zellen (Leukocyten, Schweißdrüsen, Muskelfasern usw.) unter Braunfärbung oxydiert wird, eine Eigenschaft, die es mit anderen Polyphenolen teilt. Was diesem Körper aber ein besonderes Interesse verleiht, ist der Umstand, daß er auch in den Basalzellen der pigmentierten Haut, in denen die anderen verwandten Stoffe nicht oxydiert werden, braun gefärbt wird und dadurch die Anwesenheit eines Pigmentbildners verrät. Der Vorgang kann allerdings nicht als spezifischer bezeichnet werden, da wir unter spezifischen Reaktionen im streng chemischen Sinne bloß solche verstehen, in denen ein Stoff nur mit einem einzigen anderen reagiert. Ebensowenig dürfte es nötig sein, ein Ferment als Ursache dieser Oxydation anzunehmen. Daß „Dopa" im Gegensatz zu anderen Phenolen in den Pigmentzellen noch oxydiert wird, beruht unserer Ansicht nach darauf, daß es hier dank seiner Alaningruppe noch von gewissen labilen Kolloidoberflächen chemisch gebunden, angereichert und durch gleichzeitig adsorbierten O_2 oxydiert wird. Reduzierende Stoffe (SH_2 usw.) müssen einen solchen Prozeß begreiflicherweise stören, ebenso wie alle Einwirkungen, die die Dopa-affinen Oberflächen des Zellplasmas schädigen (Säuren, Alkalien usw.), die Reaktion beeinträchtigen müssen. Ob dem Dioxyphenylalanin bei der physiologischen Pigmentbildung eine Rolle zukommt, ist vorläufig noch nicht entschieden; der Umstand, daß andere Zellen, die im Gefrierschnitt mit „Dopa" reagieren, in vivo nie braungefärbt erscheinen, macht die Annahme, daß dieser Phenolkörper

[1]) Ergebn. d. Physiol. 12, 1912.

[2]) Arch. f. Dermat. u. Syph. 124; Zeitschr. f. experim. Med. 5, 1917.

im Kreislauf in einer zu solchen Färbungen hinreichenden Konzentration vorkomme, nicht gerade wahrscheinlich.

Der Atmung wurde bisher in erster Linie die Rolle einer Energiequelle der Organismen zugeschrieben. Daneben wurde freilich von verschiedenen Forschern ihre Bedeutung in der Eliminierung schädlicher Stoffwechselprodukte gesucht. Wir möchten uns dieser letzteren Ansicht anschließen und in der Atmung hauptsächlich eine Ausscheidungsvorrichtung erblicken, durch die gewiß niedere, für den Zellhaushalt störende Stoffe beseitigt werden. Die Erscheinungen der Erstickung, die bei akutem oder chronischem O_2-Mangel auftreten, beweisen ja zur Genüge, wie wichtig diese Einrichtung für die meisten Organismen ist; sie beruhen bekanntlich auf der Bildung niederer organischer Spaltstücke, spez. Säuren, die für gewöhnlich verbrannt und dadurch in die leicht ausscheidbaren und unschädlichen Produkte CO_2 und H_2O verwandelt werden, bei fehlendem O_2 dagegen nur viel langsamer entfernt werden können. Sie häufen sich daher in oder zwischen den Zellen an, wo sie Änderungen in der Wasserbindung der Kolloide oder elektrische Potenzialdifferenzen usw. hervorbringen und damit für das Zelleben wesentliche Veränderungen schaffen können. Es würde hier zu weit gehen, diesen Verhältnissen im einzelnen nachzugehen, wir verweisen diesbezüglich auch auf die folgende Arbeit.

Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß nicht einfach jede Oxydation im tierischen oder pflanzlichen Organismus unter den Begriff der Atmung eingereiht werden kann, sondern bloß diejenigen, die in den Zellen vorhandene Stoffe in kleinere (leichter ausscheidbare) Spaltstücke überführen und dadurch deren Beseitigung aus der Zelle befördern. So ist z. B. die Überführung der Ameisensäure in CO_2 und H_2O ein typischer Atmungsvorgang, während die Entstehung von Pigmenten, wie sie in vielen Zellen aus „Chromogenen" durch Oxydation zustande kommt, zwar auch zu einem O_2-Verbrauch führt, mit der Atmung aber nichts mehr zu tun hat. Vielfach wurden bloße O-Adsorptionen, z. B. an frisch bereitetem Zellbrei, an Lecithinemulsionen und dgl., als Atmungsvorgänge aufgefaßt, selbst wenn keine CO_2-Entwickelung oder sonstige Zeichen für oxydative Aufspaltungen nachweisbar waren. Ein solches Vorgehen scheint uns aber nicht empfehlenswert, da dadurch sicher recht verschiedenartige Umsetzungen vermischt und ihre Deutung nur erschwert wird.

Dieser Rolle der Atmung gegenüber muß die Tatsache, daß die Oxydationen gleichzeitig Energie in Form von

Wärme liefern, an Bedeutung zurücktreten. Ja es ist geradezu falsch, wenn aus diesen Umsetzungen die Arbeitsleistungen der Zellen (wie Bewegung des Plasmas, Contraction und Fortbewegung ganzer Zellen usw.) direkt abgeleitet werden, wie dies noch meistens geschieht. Um in dieser Frage klar zu sehen, muß man sich bloß anschaulich machen, welche Energieumwandlungen bei diesen Oxydationen eigentlich stattfinden. Wenn z. B. ein Molekül HCOOH und ein Atom O sich infolge ihrer chemischen Affinität gegenseitig an sich reißen, so daß daraus CO_2 und H_2O entstehen, so wird die vorher latente (chemische) Energie beider Komponenten nunmehr in kinetische, d. h. in eine erhöhte Molekularbewegung umgewandelt, die wir mit unseren Instrumenten als Temperaturanstieg wahrnehmen. Die starke Molekularbewegung wird auf benachbarte Moleküle übertragen, gleicht sich dadurch allmählich aus und führt, wenn viele solcher Verbindungen zugleich stattfinden, zu einer merklichen Erhöhung der kinetischen Energie (Temperatur) aller Teilchen. Diese Bewegung ist aber ganz ungeordnet und kann natürlich als solche für genau orientierte Arbeitsleistungen der Zelle, z. B. für eine Kernteilung, gar nicht direkt verwendet werden. Wohl aber werden dadurch andere chemische Verbindungen (der hierdurch stärker bewegten Moleküle untereinander) erleichtert, die erhöhte Temperatur kommt daher dem Stoffumsatz zweifellos zugute. Für die wirklichen Arbeitsleistungen der Zelle ist aber gerade alle Energie, die sich in Wärme umwandelt, nicht brauchbar, sondern diese finden auf Grund anderer Stoffaffinitäten statt wie Adsorptionen, andere chemische Bindungen, Osmose (d. i. Affinität zu Wasser) usw. Die Oxydationen sind für diese Vorgänge nur wichtig und häufig unentbehrlich, weil sie für diese anderen chemischen Umsetzungen freie Bahn, das nötige Stoffgefälle und wie eben erwähnt, die notwendige Temperatur schaffen. Wenn sich also ein Kern teilt, so ist dies zwar eine Arbeitsleistung, aber man darf sich nicht vorstellen, daß Oxydationen (analog der Verbrennung von Kohle in der Dampfmaschine) die zu diesem Stofftransport nötige Energie liefern. Die Kernsubstanz wächst, weil sie aus der Umgebung Stoffe anzieht und dadurch ihre Eiweißmasse synthetisch vergrößert. Dies geht so lange, bis

sich der Kern (vermutlich infolge von Spannungsunterschieden an seiner Oberfläche, wahrscheinlich aber durch einen komplizierteren Mechanismus) in zwei Teile trennt. Bei alledem sind chemische Affinitäten am Werk, die Oxydationen spielen hierbei aber nur die Rolle, daß sie einen ungestörten Verlauf der Synthese garantieren und das ganze Milieu mit einer gewissen Menge diffuser Energie versehen (Temperatur, die aber auch von außen kommen könnte, z. B. Brutschrank). Wir möchten hier auf diese Frage nicht näher eingehen, weil wir in unserer folgenden Mitteilung in der Muskelenergetik ein Beispiel kennen lernen werden, das diese Verhältnisse noch besser zu illustrieren gestattet.

Ebensowenig wie Oxydationen sind natürlich auch Spaltungen (z. B. von Glykose in Zucker und von diesen in Milchsäure usw.) imstande, als Energiequellen eine Rolle zu spielen. Abgesehen von der geringen Größe der hierbei frei werdenden Energie muß bedacht werden, daß auch hier Verschiebungen der Zellbestandteile nicht direkt, sondern erst auf Grund der den entstehenden Spaltstücken eigenen chemischen Affinitäten (Wasserbindung usw.) eintreten werden.

Von diesem Standpunkte aus ist es auch ohne Schwierigkeiten möglich, die Existenz eines Lebens ohne O_2 (Anoxybiose) zu verstehen. Die Bedingung, die hierzu erfüllt sein muß, ist ja nur, daß die unter diesen Verhältnissen auftretenden Spaltprodukte in anderer Weise entfernt werden, so daß sie das chemische Gleichgewicht der betreffenden Zellen nicht stören. Während die höheren Tiere hierzu nur sehr ungenügend fähig sind, können niedere Tiere und die Pflanzen oft ziemlich lange ohne O_2 existieren, ohne daß bereits irreversible Schädigungen erfolgen. Früher oder später machen sich allerdings Störungen bemerkbar, wie Degeneration, Verlust der Fortpflanzungsfähigkeit usw. Wird hingegen der anaerobe Zustand nicht zu lange ausgedehnt, so wird er vielfach ganz gut ertragen. Dies ist dadurch möglich, daß 1. bei den betreffenden Organismen die auftretenden Spaltstücke nicht so toxisch wirken wie bei anderen, oder daß relativ weniger giftige Stoffwechselprodukte entstehen (z. B. Alkohol anstatt niederer Fettsäuren, oder höhere Fettsäuren [Valeriansäure bei Ascaris] die evtl. auskrystallisieren usw.); 2. durch synthetische Verwertung möglichst vieler Spaltstücke (was bei Pflanzen und Bakterien leichter möglich ist; vielleicht beruht auch der hohe Glykogengehalt

der anoxybiotischen Eingeweidewürmer, ferner vieler anaerober Bakterien auf einer besonderen Fähigkeit zur Synthese von niederen Kohlenhydratspaltstücken); 3. auf andersartiger Zerstörung der schädlichen Spaltprodukte (Reduktionsprozesse, Neutralisation von Säuren).

Der Ausdruck „intramolekulare Atmung“ (Pfeffer) dürfte, soweit es sich um die chemische Seite des Vorganges (Umlagerung von O innerhalb eines Moleküles) handelt, besser als intramolekulare Oxydation bezeichnet werden. Biologisch werden darunter meist die Vorgänge verstanden, die bei Luftausschluß zum Auftreten niederer oxydabler Stoffe führen (z. B. Alkohol aus Zucker). Wir möchten dieselben weder als intramolekulare noch als „anaerobe“ (Palladin) Atmung bezeichnen, sondern einfach als Hydrolysen qualifizieren. Daß O_2 in besondere Bindung mit Eiweiß („Biogen-Moleküle“ usw.) treten und in dieser Form als Energiequelle funktionieren könnte, sind ältere (antechemische) Vorstellungen, auf die hier wohl nicht mehr eingegangen werden muß.

Mit der Atmung wurde eine Gruppe von Erscheinungen in engeren Zusammenhang gebracht, die in erster Linie Funktionsstörungen des Nervensystems umfassen und die unter dem Begriff der „Narkose“ vereinigt werden. Wir möchten deshalb hier auf dieses biochemisch ebenso anziehende wie schwierige Gebiet kurz eingehen.

Vorausgeschickt muß werden, daß die Tätigkeit des Nervensystems, wie wir schon in früheren Mitteilungen erwähnt haben, in dem fortwährenden Ausgleich von Potenzialdifferenzen gesucht werden muß, die zwischen verschiedenen Organen oder Organteilen auftreten. Hierbei ist es für den Organismus wichtig, daß die dadurch gegebenen Ströme in gewissen Bahnen ablaufen, in geeigneter Stärke an bestimmte Stellen geleitet werden und daselbst ihre (elektrolytischen) Wirkungen ausüben. Erforderlich ist daher die Intaktheit der Leitung und das Bestehen resp. Auftreten von Potentialunterschieden; für die Leitung scheinen hauptsächlich die Kontaktstellen der einzelnen Nervenfasern wegen der hier gegebenen Widerstände für die Stromübertragung in ihrer chemischen Zusammensetzung von Bedeutung zu sein, während die Größe der Potentialgefälle in erster Linie von den lokalen Ionenkonzentrationen abhängig ist.

Die Narkotica bewirken nun zweifellos eine Störung dieser elektrochemischen Vorgänge, und die erste Frage muß lauten, ob dieselbe als eine einfache Vergiftung oder als eine andersartige Beeinflussung der dieser Aufgabe dienenden Elemente betrachtet werden muß. Unter Vergiftung wäre hierbei zu verstehen, daß ein fremder Stoff sich mit gewissen Zellbestandteilen (Lipoiden, Eiweißabbauprodukten usw.) fest verbindet und dadurch deren chemische Eigenschaften dauernd so verändert, daß sie zu ihren physiologischen Funktionen nicht mehr befähigt sind. Typische Zellgifte sind z. B. viele Desinfektions- und alle Eiweißfällungsmittel, die Toxine usw. Das nähere Studium der narkotischen Wirkungen hat hingegen zur Erkenntnis geführt, daß eine derartige tiefgreifende Änderung, wenigstens bei den üblichen Dosierungen, nicht einzutreten pflegt. Es ist vielmehr für alle echten Narkotica charakteristisch, daß die von ihnen geschaffenen Zellveränderungen leicht reversibel sind, daß somit nur lockere, „adsorptive" Bindungen an die Zellbestandteile stattfinden.

Dies legt die Annahme nahe, daß die Wirkungsweise nicht auf eigentlich chemischen Umwandlungen der affizierten Elemente beruhen dürfte, sondern, daß die Funktionsstörung hier dadurch gegeben wird, daß ein fremder Stoff vorübergehend in das normale chemische Gefüge sich einlagert; eine Vorstellung, die mit der eben angedeuteten Auffassung der Nerventätigkeit gut vereinbar ist, da wir wissen, daß die verschiedensten Stoffe (sowohl Elektrolyte wie Nicht-Elektrolyte) bestehende Potentialdifferenzen verstärken oder abschwächen können, wenn sie in Flüssigkeitsketten eintreten.

Überblicken wir die Narkotica (im weitesten Sinne des Wortes), so läßt schon die sehr differente chemische Natur der hierher zu zählenden Stoffe erwarten, daß derartige Störungen auf recht verschiedene Weise erreicht werden müssen. Am einfachsten dürfte die Wirkung der narkotischen Elektrolyte verständlich sein (Mg-, Ca-Salze, resp. die erregende, später schnell lähmende Wirkung der Elektrolytentfernung, wie sie z. B. Injektion von Zuckerlösung im Muskel hervorruft); indem diese Stoffe an gewissen Teilen des Nervensystems gebunden werden, erhöhen oder erniedrigen sie bestehende Po-

tentialdifferenzen und führen wohl dadurch zur Narkose[1]). Nahe verwandt in ihrer Wirkungsweise dürften alle auf Ansammlung von Säure zurückführbaren Lähmungen oder Erregungen sein, wie sie künstlich zugeführte oder spontan im Körper entstehende Säuren auslösen können (Säurevergiftung, Coma diabeticum u. ähnl.). Auch die bekannte CO_2-Narkose bietet hierfür ein Beispiel. Vor kurzem hat Capelle[2]) über Versuche berichtet, die von der Verwendung dieses Gases auch für die Praxis der Narkose einen großen Fortschritt erwarten lassen, für uns aber hier zunächst theoretisch von Interesse sind. Er fand, daß Einatmung eines Gemisches von O_2 und CO_2 mit Luft eine rasche und vollständige, hierbei ganz harmlose Narkose ermöglichen. Bei diesem Verfahren wird die im Körper entstehende CO_2 dadurch zurückgehalten, daß ihre Abgabe wegen des hohen CO_2-Gehaltes der Einatmungsluft erschwert wird. Die Folge ist, daß der schon normalerweise maximal mit CO_2 belastete Alkalibestand der Gewebe nicht mehr ausreicht, um diese Säure zu neutralisieren; es muß daher freie H_2CO_3 in größerer Menge auftreten. Hingegen werden die Oxydationen, da ja genügend O_2 zugeführt wird, nicht wesentlich beeinträchtigt. Es bleiben deshalb die für Erstickung charakteristischen Krämpfe usw. aus. Die reichlich vorhandene CO_2 wirkt aber doch als eine (wenn auch nur schwache) Säure und löst als solche zwar nicht die intensiven motorischen Erregungen (große Potentialdifferenzen) aus, wie sie stärkere Säuren bedingen, sondern eine Art diffuser Dämpfung der bestehenden Potentialdifferenzen; es treten daher rasch Erscheinungen in der sensorischen Sphäre (Gehör, Hautsinn usw.), Erlöschen der Schmerzempfindungen und des Bewußtseins ein, für die wir nach dem oben Gesagten gleichfalls Störungen der normalen Potentialgefälle verantwortlich machen möchten.

Auf einer CO_2-Retention in den Geweben beruht auch die Stickoxidulnarkose, welche klinisch ganz ähnlich der eben erwähnten CO_2-Narkose verläuft. Das N_2O ist für den Organismus

---

[1]) Aber auch hier weisen gewisse Beobachtungen wie der von Mansfeld (Arch. f. d. ges. Physiol. **161**) aufgedeckte Synergismus von Mg-Salz und Chloral, Äther usw. darauf hin, daß die Verhältnisse komplizierter sind.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. **1918**, Nr. **26**.

ganz indifferent, es löst sich aber leichter im Blut als CO_2 und verhindert daher die letztere, aus den Geweben ins Blut und von hier nach außen abzuströmen, sobald sich das N_2O in größerer Menge (einem Partialdruck von mindestens 760 mm entsprechend) vorfindet. Dies geht u. a. aus der Tatsache hervor, daß die Narkose bei einem viel höheren N_2O-Druck als dem zur Erzielung einer Narkose eben notwendigen nicht schneller eintritt[1]); sie tritt eben nicht durch das N_2O selbst ein, sondern dann, wenn genügend C_2O im Gewebe angestaut ist.

Hier muß nun die Gruppe der Narkotica im engeren und gewöhnlichen Sinne angeschlossen werden. Seitdem durch die Untersuchungen Overtons und Meyers die Lipoidlöslichkeit der meisten hierher zu zählenden Stoffe hervorgehoben wurde, ist eine Reihe von Theorien ihrer Wirkungsweise aufgestellt worden, die dieser Eigenschaft weitgehend Rechnung tragen. Allmählich haben sich aber die Gegenargumente gegen diese Auffassung gehäuft, so daß sie immer mehr verlassen wurde, während mehr physikalisch-chemische Theorien modern wurden. Es ist hier nicht möglich, auf eine auch nur kurze Kritik dieser neueren Theorien einzugehen; z. T. ist eine solche in den Vorstellungen gegeben, die wir in unseren früheren Mitteilungen (spez. I und V) entwickelt haben. Hier seien bloß die Beziehungen, welche zwischen dieser Art von Narkose und den Oxydationsvorgängen bestehen, gestreift. Auch diese wurden bekanntlich für die Theorie der Narkose verwertet, indem eine Reihe von Forschern dieselbe mit einer Erstickung in Zusammenhang gebracht haben, ein Gedanke, der von Verworn herrührt, zuerst aber unseres Wissens von H. Winterstein klar formuliert und experimentell begründet wurde. Hierzu führten nicht nur gemeinsame Symptome wie das vorübergehende Auftreten von Erregungszuständen, die Tatsache, daß Erstickung und Narkose mit der Dauer ihres Bestehens zunehmende Störungen machen und ähnliche Beobachtungen, sondern vor allem nähere Untersuchungen über den O_2-Verbrauch in der Narkose und den verstärkenden Einfluß von O_2-Mangel auf die Tiefe und Schnelligkeit der Narkose. So kam Winterstein ursprünglich zu der Ansicht, daß die Narkotica die O_2-Atmung direkt behindern; dadurch würden (ganz wie bei Erstickung)

[1]) Bock, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 75.

erregend oder sonst schädigend wirkende Stoffwechselprodukte angesammelt, die die normalen Zellen durch Verbrennung zu entfernen vermögen. Seither ist für diese Auffassung der Narkose namentlich G. Mansfeld eingetreten[1]), der unabhängig von Winterstein zu sehr ähnlichen Vorstellungen und Versuchsanordnungen kam. In einer Reihe späterer Abhandlungen, welche an dieser Stelle erschienen sind[2]), hat sich Winterstein dagegen immer entschiedener von diesem seinem früheren Standpunkte abgewendet. Wir beschränken uns hier auf die experimentell gut gestützte und scharfsinnige Kritik, welche Winterstein für diese Frage gegeben hat, zu verweisen. Wir schließen uns seiner (auch von andern Forschern wie Höber, Warburg, Traube usw.) geteilten Ansicht, daß die Oxydationshemmungen nicht das Wesentliche, sondern höchstens eine Nebenerscheinung der Wirkung dieser Narkotica sind, im allgemeinen an. Damit scheint uns aber dieser Seite ihrer biologischen Wirkung noch keineswegs alle Bedeutung abgesprochen; selbst für die Narkose wäre zu betonen, daß viele eyperimentelle Befunde, auf welche Winterstein seine Argumentation stützt, an niederen, an sich kaum oder nur wenig O_2-bedürftigen Lebewesen (Bakterien, Fröschen usw.) gewonnen wurden. Ob für die Narkose des Säugetiergehirns eine Beeinflussung der Oxydationsmöglichkeiten nicht doch eine größere Rolle spielt, müssen weitere Untersuchungen entscheiden.

Sollte sich aber auch ergeben, daß Oxydationshemmungen bei diesen Narkosen unwesentlich sind, so sind Beziehungen dieser Stoffe zu den Oxydationsvorgängen (unabhängig von der Narkose) durch viele Befunde nachgewiesen. Wir wissen, daß die hierhergehörigen Narkotica an solchen Oberflächen, die durch O_2-Affinität ausgezeichnet sind (wie Kohle, Platin, Lipoide), leicht adsorbiert werden und daselbst gewisse Vorgänge hemmen [Urethane hemmen die Oxalsäureverbrennung an Tierkohle (Warburg), die H_4O_4-Katalyse des Pt (Meyerhof) usw.[3])].

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **129**.

[2]) Diese Zeitschr. **51**, **61**, **70**, **75**.

[3]) Man kann diese Wirkung gegenüber Platin auch in der Weise demonstrieren, daß man eine $PtCl_4$-Lösung in kleinen (gleichgroßen) Reagensgläschen zur kolloiden Ausscheidung bringt; die sauber gereinigten Röhrchen werden mit folgendem frisch hergestellten Gemisch gefüllt: 10 ccm $PtCl_4$-Lösung + 100 ccm 5%igem KOH + 100 ccm

Nach den Untersuchungen von Moldovan und Weinfurter[1]) sind die Oxydationsvorgänge (Bildung von Indophenolblau, Oxydation von Alizarinblau usw.) in der Narkose stark herabgesetzt[2]), nach Joannovics und Pick[3]) die Oxydationen in der Leber während der Narkose deutlich gehemmt, nach Alexander und Cserna der Gaswechsel des Gehirns in Äthernarkose stärker reduziert als bei Morphinbetäubung[4]) usw. Durch die vorhergehenden Ausführungen über die O_2-Aktivierung dürfte der chemische Mechanismus derartiger Vorgänge dem Verständnis weiter zugänglich werden. Denn die Rolle, welche kolloide Oberflächen sowie die Reaktion des Milieus bei den Oxydationen spielen, war bisher noch sehr wenig beachtet worden. Man sprach meist von „Oxydationskatalysen", ohne daß das Wesen dieser katalytischen Vorgänge und ihres Zusammenhanges mit der Zellfunktion angegeben werden konnte. Es ist wahrscheinlich, daß die Vertreter der uns beschäftigenden Stoffgruppe die Oxydationen in den Zellen oder Geweben dadurch stören, daß sie die für die Aktivierung des O_2 wichtigen Oberflächen in Beschlag nehmen. Als solche kommen entsprechend der bekannten Lipoidaffinität der Narkotica anscheinend in erster Linie gewisse Lipoide in Betracht, die gleichzeitig auch O_2-Affinität besitzen müssen. Es soll damit aber keineswegs gesagt sein, daß ausschließlich Lipoide diese

---

20 %igem Formalin; die Mischung wird kurz über der Flamme erhitzt. Es fällt in den nächsten 24 Stunden ein feiner Niederschlag von reduziertem Platin aus, der an der Glaswand haftet. Nach dieser Zeit wird der Inhalt der Röhrchen ausgegossen. Dieselben können nun (nach Ausspülen mit Wasser) zu Katalyseversuchen in der Weise verwendet werden, daß sie mit einer H_4O_4-Lösung mit und ohne Zusatz von Narkotica (z. B. Alkohol. Äther) gefüllt und umgekehrt in dieselbe H_4O_4-Lösung gestellt werden. Man bestimmt die Schnelligkeit der Katalyse resp. den Grad ihrer Hemmung durch Messen der nach 1 bis 3 Minuten entwickelten O_2-Menge.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 157.

[2]) Die stärkere Blaufärbung des Gehirns und Herzens narkotisierter Tiere bei Methylenblauinjektion dürfte darauf beruhen, daß dieser Farbstoff durch Kohlenhydrate nur bei alkalischer Reaktion reduziert (entfärbt) wird, bei Narkose aber eine Abnahme des Alkalis durch Säureanhäufung eintritt.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. 140.

[4]) Diese Zeitschr. 58.

Rolle spielen können, wie andererseits nicht jede Lipoidbesetzung einer Zelle auf deren Atmung wirken muß, sondern bloß die Bindung an solche Lipoide, die mit den Oxydationen in Beziehung stehen. Daß auch eine eventuelle Säureanhäufung im Gewebe, welche diese Narkotica durch nervöse Erregungsvorgänge oder infolge Oxydationsbeschränkung spontan entstehender Säuren verursachen, die O_2-Aktivierung infolge Verminderung der OH-Ionen beeinflussen könnte, muß ebenfalls als möglich bezeichnet werden.

Einer ganz anderen Gruppe müssen schließlich die Alkaloidnarkotica zugeteilt werden, die anscheinend weniger die Potentialdifferenzen (also das Stromgefälle) als den Ausgleich derselben beeinflussen, indem sie die Nervenleitung (namentlich ihre End- und Umschaltungsstellen) entweder blockieren oder im Gegenteil für den Stromdurchtritt besonders geeignet machen; sie scheinen somit, soweit ihre Wirkung vorläufig beurteilt werden kann, eher die Stromwiderstände zu modifizieren und dadurch die bekannte Lähmung oder Erregung bestimmter Nervengebiete zu verursachen.

Unsere noch recht primitiven Kenntnisse über die chemischen Grundlagen der Funktion der einzelnen Nervenbahnen machen es zur Zeit unmöglich, auf diesem Gebiet mehr als provisorische Vermutungen aufzustellen. Wir stehen ja hier dem kompliziertesten Probleme der ganzen Biologie, der chemischen Erklärung des Denkens und Empfindens, seiner materiellen Grundlagen und Abhängigkeiten gegenüber, dessen Lösung ein noch recht fernes Ziel ist.

Es kann deshalb gegenwärtig von einer exakten Einteilung der narkotischen Wirkungen noch kaum die Rede sein, um so mehr, als manche hierhergehörigen Stoffe sowohl in der einen wie in der anderen Weise wirken dürften. Vielleicht ist es schon zu weit gegangen, diese zwei Wirkungsarten zu unterscheiden, die „blockierende", die die Nervenstromwiderstände erhöht und dadurch gewisse Gebiete vorübergehend ausschaltet (wie wir es von den guten Hypnotica [Schlafmittel] verlangen), und diejenige, die die Potentialdifferenzen vermehrt oder nivelliert (erregende resp. lähmende Wirkung der eigentlichen „Narkose"). So viel läßt sich immerhin sagen, daß es nicht anginge, die Narkose ganz allgemein auf einen Mecha-

nismus zurückzuführen. Speziell wäre es zu einseitig, wenn Narkose und Oxydationshemmungen als identisch aufgefaßt würden. Nicht einmal für die lipoidaffinen Narkotica scheint nach den zitierten Arbeiten diese Wirkungsart wesentlich zu sein.

Für die Atmung der Säugetiere kommt folgender Mechanismus in Betracht: Der in der Lunge eintretende O_2 löst sich in der Gewebsflüssigkeit und dem Blutplasma und wird diesem z. T. rasch wieder durch das stark O_2-affine Hämoglobin entzogen. Dieses adsorbiert (vermutlich dank seinem Fe-Gehalt) den O_2 und trägt ihn in dieser Form, d. h. locker gebunden, in die Gewebe. Daselbst besteht wegen des fortwährenden Verbrauches ein größeres O_2-Gefälle, ein Teil des am Hämoglobin verankerten O_2 wird daher hier an die Umgebung abgegeben, durch noch stärker affine Oberflächen in den Zellen gebunden und gleichzeitig aktiviert. Hier findet hierauf die Trennung der Moleküle und Bildung von Atomverbindungen (der Hauptsache nach CO_2 und H_2O) statt. Die CO_2 bindet sich teils an Alkalisalze zu Bicarbonaten, ein Teil wird aber vom Hämoglobin der roten Blutzellen adsorbiert und wandert (als „CO_2-Hämoglobin") wieder in die Lunge. Für die Abgabe der CO_2 wurde bisher entweder „Diffusion" oder gar eine „Sekretion" seitens des Lungengewebes als treibende Kräfte angenommen. Letztere Hypothese wurde namentlich von Bohr[1]) verteidigt, der die Tatsache, daß die CO_2-Spannung in der Ausatmungsluft zuweilen größer sein kann, als im Blute (ebenso wie diejenige des O_2 im Arterienblut jene der Einatmungsluft übertreffen kann), nur dadurch erklären zu können glaubte, daß er den Lungenzellen ein aktives Sekretionsvermögen zuschrieb, durch das sie diese Unterschiede der Gasspannungen ausgleichen. Wie diese „Regulierung" aber physikalisch-chemisch vor sich gehen soll, darüber dürfte der Autor wohl kaum Auskunft geben können.

Wenn wir ein lösliches Gas in Wasser einleiten, bis die Lösung gesättigt ist, sind alle Wasserteilchen mit Gasmolekülen in lockerer (molekularer) Verbindung. Weiteres Durchleiten des-

[1]) Skand. Arch. 22, 1909.

selben Gases hat bei der gleichen Temperatur keinen Effekt mehr (von der Möglichkeit, durch Druckerhöhung noch mehr Gas zwischen den Wasserteilchen zu verteilen, „absorbieren", im Gegensatz zu Lösen = adsorbieren, sehen wir hier ab). Leitet man nun ein anderes Gas ein, das sich ebenfalls im Wasser löst, so wird es, wenn es größere Affinität zum Wasser hat wie das erste Gas (z. B. CO_2 im Vergleich zu O_2), dieses z. T. aus seiner Verbindung verdrängen. Das dadurch frei gewordene Gas verhält sich nun wie ein bloß im Wasser verteiltes („absorbiertes") Gas; wenn der auf der Flüssigkeit lastende Gasdruck nicht zu groß ist, wird es entweichen, weil es ja durch chemische Affinitäten nicht mehr zurückgehalten wird; es wird jetzt „herausdiffundieren".

Kommt die in den Geweben mit CO_2 gesättigte Blutflüssigkeit in die Lunge, so tritt sie plötzlich mit einem Gas (dem O_2) in Berührung, für das das Hämoglobin eine viel größere Affinität besitzt als für sie selbst, wie man sich jederzeit durch Schütteln von CO_2-Hämoglobin und Luft überzeugen kann. Auch ein durch CO_2-Durchleitung mit CO_2 gesättigtes Blut wird, mit Luft geschüttelt, sofort hellrot; leitet man CO_2-freie Luft durch solches Blut, so läßt sich in einer Vorlage mit Ba $(OH)_2$ die vertriebene CO_2 leicht nachweisen. Nur wenn man CO_2 in großem Überschuß ins Blut bringt, verdrängt es seinerseits den etwa vorhandenen O_2 aus seiner Bindung. Es ist gegenüber diesen sehr einfachen Versuchen schwer begreiflich, daß man in verschiedenen Lehrbüchern der Physiologie die Angabe findet, daß die CO_2-Verbindung des Hämoglobins durch den gleichzeitig anwesenden O_2 nicht merklich beeinflußt werde. Ebensowenig kann als bewiesen gelten, daß sich das CO_2 an einer anderen Stelle als der O_2 (oder als CO) an das Hämoglobin anlagere; es ist vielmehr so gut wie sicher, daß dies stets an denselben Stellen stattfindet, nämlich an der großen, diese Gase gut adsorbierenden Oberfläche des kolloid-gelösten Hämoglobins.

Kommt daher das CO_2-gesättigte Blut in die Lunge und daselbst mit dem O_2 (resp. der O_2-gesättigten Alveolarwand) in Berührung, so wird die CO_2 am Hämoglobin durch O_2 verdrängt; sie wird daher in größerer Menge aus den Blutkörperchen in das Plasma übertreten; dieses enthält jetzt mehr

CO_2 als es chemisch (durch seine Salze oder sein H_2O) zu binden vermag. Es wird daher stark mit CO_2 übersättigt, ein guter Teil der CO_2 ist jetzt frei (durch chemische Affinitäten nicht zurückgehalten) und entweicht daher in Gasform (weil die große kinetische Energie der Moleküle nicht mehr durch Bindung an Wasser usw. im Zaume gehalten ist). Dieses „Herausdiffundieren“ wird um so leichter stattfinden, je geringer der auf der Flüssigkeit (Lunge) lastende Gasdruck (Gegenstoß der Luftmoleküle) ist. Vergleichende Bestimmungen der CO_2-Spannung der Ausatmungsluft und des venösen Blutes können uns hier aber nur irreführen; denn so lange das venöse Blut nicht mit dem O_2 in Berührung ist, hat es eine ganz andere und natürlich viel niedrigere CO_2-Spannung als in der Lunge; dort wird diese plötzlich durch die O_2-Aufnahme stark erhöht, und zwar so hoch, als wir es eben als CO_2-Spannung der Ausatmungsluft von Fall zu Fall messen können. Bei derartigen Erwägungen zeigt sich, wie verhängnisvoll es ist, wenn der Gas- oder sonstige Stoffaustausch bloß vom abstrakten, physikalischen Gesichtspunkte aus beurteilt und auf die chemischen Affinitäten, die in Wirklichkeit den Vorgang beherrschen, keine Rücksicht genommen wird! Bedenkt man die große chemische Affinität, die zwischen Hämoglobin und O_2 besteht, so wird man ohne weiteres verstehen, warum das Blut auch bei relativ sehr niedrigem O_2-Partialdruck noch reichlich O_2 aufnimmt, so daß auch bei sehr bedeutenden Schwankungen des O_2-Druckes nur relativ sehr geringfügige Änderungen seines O_2-Gehaltes erfolgen. Weit entfernt, ein vitalistischer Sekretionsvorgang zu sein, ist dieser Austausch vielmehr eine rein physikalisch-chemische Selbstverständlichkeit.

Wenn ein Tier in einem kleinen Luftraum erstickt, geht dies unter den bekannten Erscheinungen schwerer Krämpfe vor sich, von deren Ursache oben die Rede war. Erfolgt dagegen die Erstickung in einem relativ großen Luftraume, so geht sie unter dem Bilde einer fortschreitenden Narkose vor sich. Dies ist dadurch bedingt, daß der langsam abnehmende O_2-Gehalt eine immer größere Zunahme des Körpers an CO_2 nach sich zieht (die CO_2 immer schlechter verdrängt), die nun noch lange bevor der O_2-Mangel so groß wird, daß unverbrannte organische Säuren und damit Erregungszustände auftreten, eine CO_2-Narkose (s. o.) hervorbringt, während der das Tier allmählich zugrunde geht.

Daß im Säugetierorganismus ein Teil der Oxydationen nicht in den Geweben selbst, sondern erst im Blute und spez. in der Lunge stattfindet, wie Bohr und Henriques[1]) durch ihre Versuche mit Aortenabklemmung gefunden haben, ist gewiß zuzugeben. Wir sehen ja z. B. aus der Tatsache, daß bei starker Muskelarbeit milchsaure Salze selbst im Harn auftreten, daß die Oxydationsfähigkeit der Gewebe lange nicht immer ausreicht, um alle leicht oxydablen Stoffe schon am Ort ihrer Bildung zu verbrennen; sie gelangen z. T. noch als solche ins Blut und werden hier verbrannt, z. T. sogar unverbrannt von der Niere ausgeschieden. Andererseits ist es ebensowenig zweifelhaft, daß die Hauptmenge der Oxydationen sich in den Geweben abspielt, wie ja das Venöswerden des Blutes in den Capillargebieten beweist. Wenn die erwähnten Autoren bei ihren Versuchen durchschnittlich 33 % der Gesamt-Oxydationen in der Lunge nachweisen konnten, so gilt dies natürlich nur für die besonderen Verhältnisse ihrer Versuchsanordnung, bei der sich der größte Teil des Körpers unter Erstickungsbedingungen befand, so daß das aus der Leber usw. in die Lunge gelangende Blut ungewöhnlich reich an leicht oxydablen Stoffen sein mußte.

Daß im Organismus eine Ansammlung von O_2 stattfinden muß, ist eine notwendige Folge der Tatsache, daß verschiedene Stoffe denselben aus dem Blute an sich ziehen und locker binden. Auch die erst allmähliche Entfärbung reduzierbarer Farbstoffe, die Fortsetzbarkeit der Muskelarbeit usw. nach Aufhören der Zirkulation beweisen, daß noch O_2 einige Zeit zur Verfügung steht. Andererseits geht aus den Versuchen und kritischen Erwägungen H. Wintersteins hervor, daß eine „Speicherung" im Sinne früherer Hypothesen (als beträchtliches O_2-Reservoir) wenigstens für das Zentralnervensystem nicht angenommen werden kann. Der Verbrauch an O_2 ist eben infolge Bildung leicht oxydabler Spaltstücke ein so großer, daß der Vorrat je nach der Eigenart des Gewebes (Schnelligkeit der Autolyse, Reichtum an O_2-bindenden Oberflächen) in kürzerer oder etwas längerer Zeit erschöpft wird, eine Tatsache, die ja durch den raschen Eintritt der Erstickung für den Warmblüterorganismus zur Genüge bekannt ist.

Zusammenfassung.

1. Die Bindung der O-Atome im Sauerstoffmolekül kann durch gewisse Molekülverbindungen desselben aufgelockert werden, wodurch eine „Aktivierung" des O_2 (erhöhte Fähigkeit zu Oxydation) gegeben ist. In dieser Weise wirkt lockere, chemische Bindung an Wasser oder Metalle in Form von Peroxyden, an OH-Ionen sowie an O_2-adsorbierenden Oberflächen.

[1]) Arch. d. Physiol. 9, 1897.

2. Derart in seinem Gefüge gelockerter O_2 ist imstande, viele organische Stoffe, namentlich niedere Fettsäuren oder deren Salze ohne weitere Hilfsmittel zu CO_2 und H_2O zu verbrennen.

3. Die in den lebenden Organismen ablaufenden Oxydationen werden auf die Gegenwart aktiven O_2 und leicht oxydabler, niederer Stoffwechselprodukte zurückgeführt; die Annahme besonderer Oxydationsfermente ist entbehrlich.

4. Die Narkose des Nervensystems ist dadurch bedingt, daß die Bildung oder der Ausgleich der physiologischen Potentialdifferenzen, in denen die Tätigkeit dieses Organes beruht, gestört wird. Sehr verschiedene Stoffe können dies bewirken, indem sie locker an die Nervensubstanz gebunden (adsorbiert) werden. Gewisse Narkosen (CO_2, N_2O) beruhen auf einer Säureanhäufung in den Geweben. Eine solche spielt vielleicht auch bei den lipoid-löslichen Narkotica eine Rolle und könnte hier mit einer Hemmung der Oxydationsvorgänge in Beziehung stehen. Aber weder für diese Gruppe, noch weniger ganz allgemein für die Narkose überhaupt ist Oxydationshemmung der ausschließliche, wahrscheinlich nicht einmal der wesentliche Faktor ihrer Wirkung.

5. Der Gasaustausch in der Lunge ist kein „Sekretionsvorgang“, er beruht darauf, daß das Hämoglobin eine größere Affinität zu O_2 besitzt und daher die CO_2 durch den O_2 aus ihren Bindungen verdrängt wird.

Über den Kalkgehalt einiger Katzenorgane.

Von

Peter Rona und Wolfgang Heubner.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Kaiser Wilhelm-Akademie für das militärärztliche Bildungswesen zu Berlin.)

(Eingegangen am 2. Januar 1919.)

Im Anschluß an unsere kürzlich veröffentlichte Mitteilung über den Kalkgehalt des Blutes bei kalkbehandelten Katzen[1]) berichten wir im folgenden noch über einige Analysen von Organen der gleichen Tierart. Unsere Versuche waren mit der Absicht begonnen, die Änderungen des Organkalkes bei Kalkzufuhr in gleicher Weise zu studieren, wie wir das für den Blutkalk durchgeführt hatten. Doch sind sie infolge der mit dem Kriege in Zusammenhang stehenden Ereignisse in den Anfängen stecken geblieben; wir veröffentlichen die wenigen Analysen nur als Material für eine spätere weitere Bearbeitung der Frage, weil unsere gemeinsame Arbeit zunächst ein Ende gefunden hat, und auch jeder einzelne von uns in der nächsten Zeit durch anderweitige Pflichten voll in Anspruch genommen ist.

Da es aus äußeren Gründen unmöglich war, eine größere Zahl von Kalkanalysen mit der nötigen Sorgfalt gleichzeitig auszuführen, beschränkten wir uns zunächst auf drei Organe und wählten den Dickdarm als Ausscheidungsorgan, das Gehirn wegen der Nervenwirkungen des Kalkes, endlich die Lunge wegen ihrer starken Beteiligung bei der Chlorretention[2]) aus. Wir töteten die Tiere durch Entbluten aus den Carotiden, entnahmen dem sofort geöffneten Thorax die Lungen

[1]) Diese Zeitschr. 93, 187, 1919.

[2]) Vgl. Wahlgren, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 102, 1909.

und wogen diese nach Abspülen mit Wasser, Abtupfen mit Fließpapier und Abschneiden der Trachea an der Bifurkation. Gleich darauf wurden — möglichst von den Rändern, also parenchymreiche — Organstückchen abgeschnitten und gewogen. Danach wurde erst die Bauchhöhle des Tieres geöffnet, der Enddarm (Dickdarm) in seiner ganzen Länge herauspräpariert, geöffnet und unter dem Wasserstrahl gesäubert, darauf mit Fließpapier abgetupft und ebenso behandelt wie die Lunge. Inzwischen war das Gehirn aus dem Schädel gelöst worden, es wurde von der Dura befreit, von der Medulla scharf am Kleinhirnrande abgetrennt, im ganzen gewogen und weiter verarbeitet wie die anderen Organe. Die Präparation erfolgte stets in derselben Reihenfolge und war mit sämtlichen Wägungen immer im Laufe einer Stunde nach Durchschneidung der Carotiden beendet, so daß wir glauben, in den Frischgewichten verläßliche, mindestens aber vergleichbare Zahlen zu haben. Auf die Feststellung des „Trockengewichts" der Organe verzichteten wir angesichts der Schwierigkeit des Verfahrens und der Unsicherheit des Begriffes.

Um uns jedoch gegen den Fehler in der Beurteilung zu schützen, der in physiologischen oder postmortalen Verschiedenheiten des Wassergehaltes der Organe liegen kann, haben wir in den meisten Versuchen neben den Kalkanalysen auch je zwei Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt. Am Darm und Gehirn wurden die dazu dienenden Organstückchen so gewählt, daß sie das zur Kalkanalyse bestimmte Organstück einfaßten: vom Darm kam ein Mittelstück zur Kalkanalyse, ein daran anschließendes oberes und unteres Stück zur Stickstoffanalyse; vom Gehirn wurden drei Scheiben ausgeschnitten, die am vorderen Rande des Schläfenlappens begannen und ziemlich dicht vor dem Kleinhirn endeten; sie gingen durch die ganze Masse des Gehirns hindurch und waren an der Konvexität breiter als an der Basis; zur Stickstoffanalyse kam gewöhnlich die Hälfte der vorderen und hinteren Scheibe, zur Kalkanalyse der Rest. Übrigens stimmten die Parallelbestimmungen oft so gut miteinander überein, daß ein Zweifel über den Stickstoffgehalt des auf Kalk analysierten Organes kaum obwalten kann; in den anderen Fällen wurde das Mittel der beiden Stickstoffbestimmungen als korrekt angesehen.

Für die Kalkbestimmung wurden die Organstücke zunächst mit 100 ccm Salzsäure vom spez. Gew. 1,19 12 Stunden lang in Jenenser Kolben am Rückflußkühler gekocht; dabei gingen sie unter Hydrolyse und Abscheidung geringer Mengen von Melanin in Lösung. Die erhaltenen Flüssigkeiten mit dem Melanin wurden in Platinschalen vorsichtig auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft, der Rückstand verkohlt, mehrmals mit verdünnter Salzsäure ausgezogen, verascht und endlich (gemeinsam mit den salzsauren Auszügen) weiter nach der Methode von Jansen[1]) verarbeitet.

Eine Zusammenstellung der erhaltenen Zahlen gibt die Tabelle I, eine Reduktion dieser Werte auf Gewichtseinheiten die Tabelle II. Die Tiere 1 bis 3 waren Normaltiere, Nr. 4 hatte 0,175 g ($CaCl_2 + 6 H_2O$) pro Kilogramm 16 Stunden, Nr. 5 0,26 g pro Kilogramm $2^1/_2$ Stunden vor dem Tode erhalten, beide intravenös in $5^0/_0$iger Lösung. An Vergiftungserscheinungen zeigte sich Taumeln beim Gehen und etwas Schwäche in der ersten Zeit nach der Injektion, doch besserten sie sich schon nach Ablauf einer halben Stunde und waren zur Zeit der Entblutung bei beiden Tieren völlig geschwunden.

Für die Beurteilung der Zahlen ist es von Bedeutung, daß das Tier Nr. 1 aus dem Etappengebiet in Frankreich gesandt war und das erste Zeichen von Erkrankung bot, insofern es am Versuchstage nicht mehr fraß. Es war, wie die meisten Tiere, die wir aus Frankreich erhielten, sehr fettarm[2]). Im Gegensatz dazu waren die übrigen Tiere in Berlin gefangen, fettreich und sehr kräftig; soweit sie noch im Laboratorium gehalten waren (Nr. 2, 4 und 5), hatten sie Pferdefleisch und Küchenabfälle als Futter bekommen. Das Tier Nr. 4 hatte kurz vorher geworfen, wie bei der Sektion an den milchenden Brustdrüsen erkannt wurde; es war seit drei Tagen im Laboratorium.

Das magere Tier Nr. 1 fällt aus der Reihe der übrigen, insofern erklärlicherweise die Organgewichte im Verhältnis zum Körpergewicht viel höher sind, und zwar bei Lunge und

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 176, 1918.

[2]) Es verdient Erwähnung, daß auch fast alle Tiere, die zu den Blutanalysen unserer früheren Mitteilung gedient hatten, französische Katzen waren.

Tabelle I.

Nr.	Körpergewicht, Herkunft und Vorbehandlung des Tieres	Organ	Organgewicht frisch	Zur Analyse abgewogen		Gefunden		Zur Analyse abgewogen		Gefunden	
				Minuten nach dem Tode		0,1 n-H_2SO_4	N	Minuten nach dem Tode		0,01 n-Thiosulfat	CaO
			g		g	ccm	mg		g	ccm	mg
1	1,99 kg, weiblich, aus Frankreich gesandt, seit 4 Tagen im Laboratorium, fraß am Versuchstage nicht mehr.	Lunge	16,17					13	6,93	5,89	1,649
		Enddarm	17,41					28	6,18	8,63	2,416
		Gehirn	28,18					34	7,99	6,96	1,949
2	2,5 kg, weiblich, in Berlin gefangen, seit 3 Wochen im Laboratorium gefüttert.	Lunge	15,36	19	2,43	41,0	57,4	15	4,07	4,56	1,277
				23	2,47	42,0	58,8				
		Enddarm	16,09	38	2,40	49,0	68,6	35	5,74	6,47	1,812
				42	2,48	47,5	66,5				
		Gehirn	24,94	55	1,88	29,5	41,3	62	5,20	2,04	0,571
				66	2,78	37,5	52,5				
3	2,4 kg, weiblich, am Tage vorher in Berlin frisch gefangen, noch nicht im Laboratorium gefüttert.	Lunge	15,08	17	0,70	10,0	14,0	13	7,25	6,85	1,918
				20	1,17	20,0	28,0				
		Gehirn	25,61	50	0,93	11,3	15,8	53	9,38	4,29	1,201
				56	1,27	17,5	24,5				
4	2,85 g, weiblich, mit stark geschwollenen, milchführenden Milchdrüsen; in Berlin gefangen, seit 3 Tagen im Laboratorium gefüttert; — erhält 16 Stunden vor dem Tode 0,5 g $CaCl_2 + 6 H_2O$ intravenös.	Lunge	17,87	22	1,23	22,45	31,4	19	10,35	6,30	1,764
				25	1,45	26,2	36,7				
		Enddarm	20,42	37	1,41	27,0	37,8	35	9,60	9,21	2,579
				39	1,43	25,15	35,2				
		Gehirn	22,64	47	1,53	20,25	28,4	50	9,43	4,74	1,327
				53	1,46	19,8	27,7				
5	4,2 kg, alter Kater (mit sehr straffem Bindegewebe), in Berlin gefangen, seit 2 Wochen im Laboratorium gefüttert; — erhält $2^1/_2$ Stunden vor dem Tode 1,1 g $CaCl_2 + 6 H_2O$ intravenös.	Lunge	25,93	25	0,97	19,65	27,5	28	8,06	10,0	2,800
				31	1,05	20,75	29,1				
		Enddarm	27,63	44	1,49	25,8	36,1	47	8,74	7,91	2,215
				49	1,57	30,35	42,5				
		Gehirn	22,68	56	1,25	17,2	24,1	60	7,95	4,43	1,240
				64	1,58	22,3	31,2				

Darm um 30%, beim Gehirn um 45%. Auffallender als dies ist aber der außerordentlich hohe Kalkgehalt des Gehirns,

Tabelle II.

Nr.	Gewicht pro kg Körpergewicht	N pro 100 g Frischgewicht		N pro kg Körpergewicht	CaO pro 100 g Frischgewicht	CaO pro g N	CaO pro kg Körpergewicht	
	g	g	g	g	mg	mg	mg	
				Lunge				
1	8,1				**23,8**		1,93	französisch!
2	6,1	2,36	2,38	0,146	**31,4**	13,2	1,93	
3	6,3	2,00	2,40	0,138	**26,5**	12,0	1,67	
4	6,3	2,55	2,52	0,159	**17,0**	6,7	1,07	milchend! } mit Ca ge-
5	6,2	2,83	2,77	0,173	**34,6**	12,4	2,14	Kater } spritzt.
				Gehirn				
1	14,1				**24,4**		3,31	französisch!
2	10,0	2,20	1,89	0,204	**11,0**	5,4	1,10	
3	10,7	1,72	1,91	0,194	**12,8**	7,1	1,37	
4	8,0	1,86	1,89	0,149	**14,1**	7,5	1,13	milchend } mit Ca ge-
5	5,4	1,93	1,97	0,105	**15,6**	8,0	0,84	Kater! } spritzt.
				Enddarm				
1	8,7				**39,3**		3,44	französisch!
2	6,4	2,86	2,68	0,177	**31,6**	11,4	2,04	
4	7,2	2,68	2,46	0,184	**26,9**	10,5	1,93	milchend } mit Ca ge-
5	6,6	2,42	2,70	0,169	**25,3**	9,9	1,67	Kater } spritzt

der etwa das Doppelte des „normalen“ beträgt; auch im Enddarm weist dieses Tier den höchsten von allen ermittelten Werten auf.

Bei den übrigen, gesünderen und kräftigeren Tieren findet sich eine sehr gute Konstanz des Lungengewichts mit 6,1 bis 6,3 g pro Kilogramm Körpergewicht; der Stickstoffgehalt der Lunge bewegt sich mit etwa 20% Schwankungen um den Wert von 2,45%. Im Kalkgehalt besteht bei den zwei unbehandelten Tieren gute Übereinstimmung mit dem Mittelwert von 12,6 mg CaO pro Gramm Stickstoff; pro 100 g Gewebe beträgt die Zahl etwa 30 mg, sie liegt also sehr wesentlich höher als für den Blutkalk (durchschnittlich 11 mg). Das kalkbehandelte Tier Nr. 5 weist ebenfalls den gleichen Betrag auf; ein Einfluß der hohen intravenösen Dosis ist also nicht nachweisbar. Sehr auffällig ist nun der fast um die Hälfte

niedrigere Wert bei dem zweiten kalkbehandelten Tiere Nr. 4; vielleicht hängt diese Beobachtung mit dem einige Tage vorher erfolgten Wurf zusammen; weniger wahrscheinlich scheint uns eine Beziehung zu einigen atelektatischen Stellen, die an den im übrigen ganz gesunden Lungen bemerkt wurden. Jedenfalls ist hier erst recht jeder Einfluß der Injektion zu leugnen.

Aus einer alten Angabe, die von Ins (bei Nencki) gemacht hat[1]), läßt sich berechnen, daß er in normalen Hundelungen etwa 20 bis 24 mg CaO auf 100 g Frischgewicht fand; die Zahlen fallen in den Bereich der von uns ermittelten Werte. Dennstedt und Rumpf[2]) fanden in der Lunge eines Kindes 39 mg CaO auf 100 g frische, fettfreie Substanz.

Weniger zuverlässig dürften die Angaben von W. v. Moraczewski[3]) sein, der eine für die angewandte Substanzmenge zu ungenaue Methode benutzte; er ermittelte 5, 6 und 7 mg CaO auf 100 g frischer Lungensubstanz von pneumoniekranken Menschen.

Am Gehirn unserer Tiere sind die Schwankungen des relativen Gewichts wesentlich größer als an der Lunge. Bei Nr. 5, einem alten sehr starken Kater, war es schon bei der Präparation auffällig, ein wie kleines Gehirn der große, aber sehr starkknochige Schädel barg. Nach den uns bekannten Angaben der Literatur wurde ein so kleiner Wert (von 5,4 g pro Kilogramm Körpergewicht) bisher nicht festgestellt, ebensowenig übrigens auch ein so hoher Wert wie bei unserem Tier Nr. 1. M. Weber[4]), Ziehen[5]), P. Warncke[6]), K. Funk[7]) und J. Morawski[8]) teilten Zahlen für das Hirngewicht von insgesamt 24 erwachsenen männlichen und weiblichen Katzen mit, die sich zwischen 6,8 und 11,3 g pro Kilogramm Körpergewicht bewegen und das Mittel 9,0 ergeben. Die Werte für unsere Tiere Nr. 2 bis 4 liegen in dem gleichen Bereich und geben

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **5**, 189, 1876.

[2]) Mitteil. aus den Hamburg. Staatskrankenanst. **3**, 62, 1900.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**, 483, 1897.

[4]) Festschr. f. Gegenbaur, **3**, 103, 1897, Leipzig, Wilh. Engelmann.

[5]) v. Bardelebens Handbuch der Anatomie des Menschen. **4**, Zentralnervensystem I; Jena 1891; zit. nach Funk.

[6]) Journ. f. Psychiatrie u. Neurologie **13**, 1908; zit. nach Funk.

[7]) Karl Funk, Über das absolute und relative Hirngewicht bei Tieren. Inaug.-Diss. med. Würzburg 1911.

[8]) Jahrb. f. Psychiatrie u. Neurologie **33**, 306, 1912.

das Mittel 9,6. Sehr junge Tiere besitzen nach Weber, Ziehen und Morawski ein höheres relatives Hirngewicht.

Der Stickstoffgehalt des Gehirns schwankt bei unseren Tieren bis zu etwa $15^0/_0$ um den Betrag von $1,92^0/_0$, der Kalkgehalt liegt bei den zwei Normaltieren bei 5,4 und 7,1 mg CaO pro Gramm N. Ob die Werte von 7,5 und 8,0 mg bei den kalkbehandelten Tieren eine reelle Erhöhung bedeuten oder einfach noch zu den spontanen Variationen zu zählen sind, muß zweifelhaft bleiben; auf jeden Fall ist die etwaige Steigerung nur sehr geringfügig. Etwas größer erscheint sie, wenn man die Zahlen auf das Organgewicht bezieht, mit 14,9 mg im Mittel gegen 11,9 mg des normalen Durchschnitts, wobei man freilich die spontane Erhöhung bei Nr. 1 bis auf 24,4 mg ausschalten müßte. Der — wie es scheint — normale Durchschnitt von 11,9 liegt völlig im Bereich der für das Blut ermittelten Normalzahlen; Gehirn und Blut haben also wohl den gleichen Kalkwert bei der Katze.

Zum Vergleich schließen wir eine Übersicht der uns bekannt gewordenen Zahlen früherer Autoren über den Hirnkalk an. (Tabelle III.)

Doch ist bei ihrer Betrachtung folgendes zu bemerken: Dennstedt und Rumpf äußern sich nicht sehr klar darüber, was sie unter „fettfreier“ frischer Substanz beim Gehirn verstehen. Ferner konnten die Zahlen von Quest und MacCallum und Voegtlin nur schätzungsweise auf das Frischgewicht bezogen werden. Quest und Weigert haben neben den Kalkwerten auch Stickstoffzahlen für ihr Analysenmaterial gegeben; da sie aber vorher die Gehirnsubstanz mit Alkohol, Chloroformalkohol und Äther gründlich extrahierten und dabei natürlich viel stickstoffhaltige Lipoide entfernten, so läßt sich mit diesen Angaben nichts Rechtes anfangen. Auch ist die Frage aufzuwerfen, ob ihnen nicht ein gewisser Anteil des Calciums durch ihr Verfahren entgangen ist.

Trotz dieser Vorbehalte scheint aus der Tabelle hervorzugehen, daß die Kalkwerte bei den 3 Tierarten Mensch, Hund und Katze in den gleichen Bereich fallen, wenn auch die Abhängigkeit der Schwankungen innerhalb dieses Bereichs von Krankheitszuständen usf. wenig geklärt ist. Wichtig ist die Tatsache des Abfalls des menschlichen Hirnkalkes mit dem Wachstum, die Quest feststellte. Seine Zahlen sinken vom Fötus über den Neugeborenen bis zum 8jährigen Kinde herab, und zwar vom einfachen Betrag auf ein Drittel davon. Der

Tabelle III.

Kalkgehalt des Gehirns.

Autor	Tierart	Zustand	CaO pro 100 g Frischgewicht mg	Zahl der Analysen	Bemerkungen
MacCallum und Voegtlin[1])	Hunde	normal	ca. 22	3	unsicher, da Frischgewicht aus dem Trockengewicht geschätzt.
Weigert[2])	Hund	sehr jung, gesund	23,0	1	
MacCallum und Voegtlin	Hunde	nach Exstirpation der Nebenschilddrüsen	ca. 14	4	desgl.
Weigert	Hund	sehr jung, mit Krämpfen	16,5	1	
Quest[3])	Mensch	Föten 7 bis 8 Monate	ca. 30	2	unsicher, da Frischgewicht aus Trokkenpulver nach Lipoidextraktion geschätzt.
Derselbe	Mensch	Kinder 0 bis 8 Jahre	ca. 20 bis 10	10	desgl., mit dem Alter absinkend.
Dennstedt und Rumpf[4])	Mensch	Frühgeburt	15,2	1	
Dieselben	Mensch	Diabetes	20,5 bis 20,9	2	auf frische, fettfreie Substanz berechnet.
Dieselben	"	Herzkrankheit	19,5	1	
Dieselben	"	Carcinom	15,2	1	
Dieselben	"	Anämie	13,4 bis 14,3	2	

Hirnkalk verhält sich also ähnlich wie der Blutkalk[5]) — Bemerkenswert ist ferner die übereinstimmende Angabe von Quest, Weigert und MacCallum und Voegtlin, daß Krampferscheinungen (Tetanie) mit einem niedrigeren Kalkwert im Gehirn zusammengehen. — Interessant ist auch der Befund eines niedrigeren Kalkwertes in der Medulla gegenüber dem Großhirn: MacCallum und Voegtlin fanden nur etwa 12 mg bei gesunden und 9 mg bei nebenschilddrüsenlosen Tieren.

---

[1]) Journ. of experim. Med. **11**, 118, 142f., 1909.

[2]) Monatschr. f. Kinderheilk. **5**, 457, 1906.

[3]) Jahrb. f. Kinderheilk. **61**, 114, 1905.

[4]) Mitteilungen aus den Hamburgischen Staatskrankenanstalten **3**, 1, 62, 1900.

[5]) Vgl. u. a. Jansen, Arch. f. klin. Med. **125**, 172, 175, 1918.

Den geringeren Kalkwert des Rückenmarks bestätigen übrigens auch Dhéré und Grimmé[1]), deren Zahlen uns sonst wenig Vertrauen zu verdienen scheinen, da sie allzu stark von allen übrigen (nach unten) abweichen; gleiches gilt für die meisten Werte, die von Moraczewski[2]) mitgeteilt hat. Ob etwa veränderte Ernährung einen so großen Einfluß auf den Hirnkalk haben kann, um diese niedrigen Werte zu erklären, müßte erst die Zukunft lehren.

Am Dickdarm fanden wir das relative Organgewicht bei den Berliner Katzen ziemlich konstant zwischen 6,4 und 7,2 g pro Kilogramm. Die Kalkwerte schwanken pro Gramm N zwischen 9,9 und 11,4 mg pro 100 g Organgewicht zwischen 25,3 und 31,6 mg. Die kalkbehandelten Tiere weisen die niedrigsten Werte auf! Dies ist sehr auffällig; wir hätten mindestens im Versuch 5 $2^1/_2$ Stunden nach Injektion einer recht beträchtlichen Kalkdosis in dem Hauptausscheidungsorgan eine Vermehrung des Kalkes erwartet.

In einer Analyse des Hundekolons fand Rey[3]) 26 mg CaO auf 100 g Organgewicht, übrigens gleichzeitig 22 mg im Dünndarm; beides drei Tage nach einer subcutanen Injektion von 0,09 mg CaO (entsprechend 0,36 g $CaCl_2 + 6H_2O$) pro Kilogramm als essigsaurem Salz und nach einer bereits erfolgten Ausscheidung von 53,4 °/₀ des eingespritzten Kalks im Dickdarminhalt, höchst unbedeutender Mengen im Dünndarm.

Unwahrscheinlich hohe Zahlen für den Kalkgehalt der Lunge und des Gehirns, meist auch des Darms hat A. Kost[4]) angegeben; er arbeitete mit unvollkommener Methodik.

Das Ergebnis der beiden bisher ausgeführten Versuche mit Calciumzufuhr lässt sich dahin zusammenfassen, daß von irgendeiner spezifischen Affinität des Calciums zu einem der untersuchten Organe nicht die Rede sein kann. Man kann berechnen, daß die drei Organe zusammen an Gewicht etwa 2,3 °/₀ der gesamten Körpersubstanz ausmachen und 5 mg CaO pro Kilogramm Körpergewicht enthalten. Im Versuch 4 waren 44,8 mg CaO pro Kilogramm Körpergewicht zugeführt worden, ohne daß nach 16 Stunden eine Steigerung des Organkalks nachgewiesen werden konnte, obwohl die Ausscheidung des

---

[1]) Compt. rend. Soc. Biol. **60**, I, 1119, 1906.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **23**, 483, 1897.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 295, 300, 1895.

[4]) Die Kalkverteilung im Organismus nach Aufnahme von Chlorcalcium, Inaug.-Diss. med. Bonn 1913.

Kalks aus dem Organismus sehr langsam erfolgt[1]). Im Versuch 5 waren 66,5 mg CaO zugeführt; unter der Voraussetzung, daß sich diese Menge $2^1/_2$ Stunden ohne Verlust im Körper halten und gleichmäßig auf die Organe verteilen würde, müßte man einen Zuwachs von 1,5 mg, also um 30% bei allen drei Organen erwarten. Bei Lunge und Gehirn könnte man diesen Zuwachs einigermaßen erfüllt sehen, beim Enddarm fehlt er auch hier vollständig. Vor allem fehlt jeder Zuwachs über eine gleichmäßige Verteilung hinaus und — wie uns scheint — auch über die natürlich vorkommenden Schwankungen des Kalkgehalts hinaus. In dieser negativen Feststellung dürfte immerhin ein positiver Gewinn unserer unvollständigen Versuche gegeben sein.

Eine bedeutsame Frage ist es, ob mehrmalige Calciumzufuhr zu Anreicherung in den Organen führt. Einige Analysen, die Julius Schütz[2]) mitgeteilt hat, sprechen dafür, daß Magnesium bei einmaliger Zufuhr trotz narkotischer Wirkung nicht in merklicher Menge im Gehirn zu finden ist, daß es sich jedoch bei mehrfach wiederholter Zufuhr in der Hirnsubstanz anreichert. Gewisse Beobachtungen über Calciumwirkung lassen Analoges für dieses Element erwarten.

Für die Therapie ergibt sich daraus mindestens so viel, daß — soweit eines der Organe Hirn, Lunge oder Enddarm in Frage kommt — einmalige intravenöse Calciuminjektionen sehr wenig aussichtsreich sind. Zu der wichtigen Frage nach dem Zusammenhang zwischen Kalkverteilung und Kalkwirkung liefern unsere Versuche keinen Beitrag, weil Wirkungen im Augenblick des Todes nicht vorhanden waren.

Zusammenfassung.

1. Bei fünf Katzen schwankte der Gehalt an Kalk in der Lunge von 17 bis 35, im Gehirn von 11 bis 24, im Enddarm von 25 bis 39 mg CaO auf 100 g Frischgewicht.

---

[1]) Rüdel, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **33**, 79, 1894. — Rey (a. a. O.) fand am Hunde nach intravenöser Injektion von 0,14 bis 0,21 g CaO pro Kilogramm intravenös (entsprechend 0,55 bis 0,82 g $CaCl_2 + 6\,H_2O$ pro Kilogramm) eine Ausscheidung im Dickdarm von 16,5 mg CaO pro Tag und Kilogramm, im Harn und Dünndarm nur kleinste Bruchteile davon.

[2]) Zeitschr. f. Balneologie usw. 7, 1914. — Vgl. auch Mansfeld und Bosányi, Arch. f. d. ges. Physiol. **152**, 175, 1913. — E. Stransky, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **78**, 122, 1915.

2. Ein merklicher Einfluß vorhergehender intravenöser Injektion von Chlorcalcium auf den Kalkgehalt dieser Organe war nicht festzustellen.

Herrn Professor Cremer sprechen wir erneut für die Überlassung von Arbeitsplätzen und Hilfsmitteln des Physiologischen Instituts der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin unseren herzlichsten Dank aus.

Wesen und Bedeutung der Bromatik, d. h. der Lehre von der Zubereitung der Speisen nach wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Grundsätzen.

Von

Theodor Paul.

(Aus der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München.)

(Eingegangen am 6. Januar 1919.)

1. Wesen der Bromatik.

Es ist eine eigentümliche Erscheinung, daß trotz der großen Fortschritte der Naturwissenschaften und besonders der Chemie seit Anfang des vorigen Jahrhunderts und trotz der beispiellosen Erfolge, die ihre Nutzanwendung vielen Zweigen der Technik brachte, die Erkenntnis und die Lehre von den Lebensmitteln und ihrer Zubereitung verhältnismäßig wenig Förderung erfahren hat. Im Jahre 1877 gab Carl von Voit seiner Verwunderung hierüber mit folgenden Worten Ausdruck: „Man sollte es kaum für möglich halten, daß wir über das, was die Menschen auf unserer Erde essen, nur die dürftigsten Kenntnisse besitzen; gerade im Interesse der Wissenschaft möchte ich dazu ermuntern, möglichst ausgedehnte Studien in dieser Richtung anzustellen.“ Wohl hat seitdem die Ernährungsphysiologie und ins-

besondere die Stoffwechsellehre dank der rastlosen Tätigkeit Voits und anderer hervorragender Forscher bedeutende Fortschritte gemacht; es wurde aber nichts an der Tatsache geändert, daß auch heute noch die Zubereitung der Speisen vorwiegend in den Händen von Personen liegt, die von den Eigenschaften der Lebensmittel und ihrer rationellen Verwertung sehr wenig, meist so gut wie nichts verstehen. Die Art und Weise der Zubereitung der Speisen und unsere heutigen Kochbücher unterscheiden sich mit geringen Ausnahmen nicht wesentlich von denen der früheren Jahrhunderte, ja Jahrtausende. Unsummen von Werten gehen dadurch Tag für Tag verloren! Dabei stelle man sich vor, daß das deutsche Volk in den letzten Jahren vor dem Kriege für Lebensmittel alljährlich etwa 19 Milliarden Mark aufwandte, und daß $^3/_4$ der gesamten Bevölkerung, und zwar der minderbemittelte Teil, ungefähr $^2/_3$ des Einkommens für Essen und Trinken ausgibt.

Die Ursache dieser fast unbegreiflich erscheinenden Tatsache ist in erster Linie darin zu suchen, daß die Beschäftigung mit den die Kochkunst betreffenden Fragen als unwissenschaftlich, ja als Zeichen einer allzu sehr auf das Materielle gerichteten Lebensauffassung angesehen wurde. Man war und ist auch heute noch nur zu sehr geneigt, wo vom Kochen die Rede ist, an Schlemmerei und Schleckerei zu denken. So kommt es, daß sich Chemiker von Ruf nur ganz ausnahmsweise auf diesem Gebiete betätigt haben, und daß die Persönlichkeiten, die sich aus Liebhaberei oder in der wohlmeinenden Absicht, ihren Mitmenschen zu nützen, mit derartigen Fragen beschäftigten, Bedenken trugen, damit an die Öffentlichkeit zu treten. „Sie befürchteten durch die Beschäftigung mit diesem Gegenstande in den Geruch des Materialismus zu geraten, durch liebevolles Eingehen auf die Theorie der Küchenkunst sich einer förmlichen Anerkennung der Rechte der Materie schuldig zu machen und durch diese Anerkennung das Dogma von der Überlegenheit des Menschen über die Tierwelt zu erschüttern" (R. Habs). So zögerte Anthelm Brillat-Savarin (geb. 1755, von 1804 bis zu seinem 1826 erfolgten Tode Mitglied des Obersten Gerichtshofes in Paris) lange Zeit bevor er sein nach Form und Inhalt klassisches Werk über die Physiologie des Geschmackes drucken ließ. Als Grund hierfür gibt er in der Vorrede zu diesem Buche an: „weil mein Stand mich zu ernsten Studien verpflichtet, und ich fürchten muß, daß diejenigen, die mein Buch nur dem Titel nach kennen, glauben könnten, ich beschäftige mich nur mit Alfanzereien." Das Buch, das viele Auflagen erlebte und in andere Sprachen übersetzt wurde, erschien ohne Namensnennung erst kurz vor Brillat-Savarins Tode. Bereits vorher hatten zwei hervorragende Männer ihre Werke anonym erscheinen lassen. Der geistreiche Franzose

Balthasar Grimod de la Reynière (geb. 1758, Advokat und Theaterkritiker, gest. 1837) gab den „Almanach des Gourmands“ (8 Bände, Paris 1803 bis 1812) und den „Manuel des Amphitryons“ (Paris 1808) heraus. Dem gelehrten deutschen Kunsthistoriker Carl Friedrich von Rumohr (geb. 1785, gest. 1843), dessen „Italienische Forschungen“ eine neue Epoche in der Kunstgeschichte eröffneten, verdanken wir das ausgezeichnete Buch „Geist der Kochkunst“ (Cottasche Buchhandlung, Stuttgart und Tübingen 1822). „Sein Werk ist die erste wirkliche Theorie der Kochkunst und eine wahrhaft wissenschaftliche Arbeit, wenn man nicht etwa den Ausspruch Wilhelm von Humboldts leugnen will, daß alles wissenschaftliche Arbeiten in der Zurückführung des Einzelnen auf das Allgemeine bestehe“ (R. Habs).

Justus von Liebig (geb. 1803, gest. 1873) schreibt in einer Abhandlung über Kaffeebereitung nach einer Schilderung der Eindrücke, die er in seiner frühesten Jugend bei dem häufigen Besuch der Darmstädter Hofküche erhalten hatte: „So ist mir denn von da an eine Neigung zum Kochen geblieben, und in meinen Mußestunden beschäftige ich mich häufig mit den Mysterien der Küche, mit der Zubereitung der Speisen, welche die Menschen genießen, und was alles dabei vorgeht; es sind dies meistens Dinge, von denen die Chemie so gut wie nichts weiß. Junge talentvolle Chemiker geben sich mit dergleichen Arbeiten nicht ab, da diese nicht geeignet sind, als Dokumente ihrer Geschicklichkeit oder ihres Scharfsinns zu dienen, oder Anspruch auf Anerkennung im Gebiete ihrer Wissenschaft zu machen, und so müssen sich schon die Alten damit beschäftigen.“ Aber auch einem Gelehrten wie Liebig konnte nach seinem Tode von einem hervorragenden Chemiker aus seiner Beschäftigung mit der Lebensmittel- und Küchenchemie noch der Vorwurf der Unwissenschaftlichkeit gemacht werden. Mit ähnlichen Vorurteilen hatte Jac. Moleschott zu kämpfen, mit dessen Schriften[1]) die neuzeitliche Lehre von den Nahrungsmitteln beginnt, und der als einer der Ersten auf die soziale Bedeutung einer zweckmäßigen Arbeiterernährung hinwies. Erst in jüngster Zeit ist von einer angesehenen Persönlichkeit bemängelt worden, daß an einer amerikanischen Universität ein Chemiker auf Grund einer Dissertation, die die Technologie der Beefsteakbereitung behandelte, zum Doktor promoviert wurde. Zum Glück stehen derartige Vorkommnisse nur vereinzelt da, und man könnte über sie mit Stillschweigen hinweggehen, wenn nicht die Gefahr bestünde, daß durch solche Äußerungen, besonders wenn sie von einflußreichen Gelehrten getan werden, die Bedeutung derartiger Probleme herabgewürdigt wird, und junge begabte Chemiker abgehalten werden, sich diesen Studien zu widmen. Der Endzweck jeder Wissenschaft, und wäre sie die abstrakteste, muß der sein, der Menschheit zu nützen. Für die Entscheidung der Frage, ob eine

[1]) Die ersten Auflagen der beiden grundlegenden Bücher Jac. Moleschotts: „Die Physiologie der Nahrungsmittel“ (Darmstadt, Verlag von C. W. Leske) und die „Lehre der Nahrungsmittel für das Volk“ (Erlangen, Verlag von F. Enke) erschienen im Jahre 1850.

Betätigung als wissenschaftliche Forschung anzusehen ist, kommt nicht die Art des Gegenstandes in Betracht — alle Dinge können Gegenstand wahrer wissenschaftlicher Forschung sein —, sondern nur die Art der Betätigung. Erfolgt diese nach wissenschaftlichen Gesichtspunkten und mit wissenschaftlichen Methoden, so handelt es sich um wissenschaftliche Forschungstätigkeit. In diesem Sinne muß auch die Lehre von der Zubereitung der Speisen zur wissenschaftlichen Chemie gerechnet werden. Justus von Liebig, einer der Schöpfer der modernen organischen Chemie, hat ausgezeichnete Untersuchungen auf diesem Gebiete ausgeführt: über die Bestandteile des Fleisches, die zweckmäßige Zubereitung des Fleisches, über Fleischinfus für Kranke, Fleischextrakt, die Herstellung eines der Muttermilch möglichst gleichenden Nahrungsmittels für Säuglinge, die Herstellung eines Backpulvers zur Bereitung von Brot ohne Hefe oder Sauerteig, die Entsäuerung des Weines usw.

Da es sich bei der Lehre von der Zubereitung der Speisen um ein genügend abgegrenztes Forschungs- und Wissensgebiet handelt, ist es wünschenswert, ja notwendig, dafür einen geeigneten Namen festzusetzen. Dies muß schon aus dem Grunde geschehen, um Verwechslungen mit den Begriffen Gastronomie, d. h. Studium der Tafelgenüsse (A. Brillat-Savarin), und Gastrosophie, d. h. Lehre von den Freuden der Tafel (E. v. Vaerst) vorzubeugen. Es wird deshalb der Name Bromatik vorgeschlagen[1]). Das griechische Wort *βρῶμα* bedeutet Speise, Nahrung, das Essen oder Speisen. Es handelt sich um eine ähnliche Wortbildung wie bei Diplomatik, Mathematik usw. Zu ergänzen ist nach altgriechischer Ausdrucksweise *τέχνη* = Kunst (aber an den Sinn „Kenntnis" oder „Wissenschaft" streifend). Es soll demnach durch das Wort Bromatik zum Ausdruck gebracht werden, daß es sich

[1]) Die Bezeichnung „Kochwissenschaft" im Gegensatz zur empirischen „Kochkunst" ist nicht erschöpfend genug. Es handelt sich nicht nur um das „Kochen", d. h. die Herstellung einer schmackhaften Kost, sondern vor allem auch um die Erforschung der Bestandteile der Lebensmittel sowie der chemischen und physikalisch-chemischen Vorgänge bei der Zubereitung der Speisen zum Zwecke einer möglichst rationellen Ernährung. Die Benutzung des Ausdruckes „Bromatologie" ist nicht angängig, da man früher bis in die ersten Jahrzehnte des vorigen Jahrhunderts in der medizinischen Wissenschaft mit diesem Wort die Lehre von den Nahrungsmitteln mit besonderer Berücksichtigung ihrer Anwendung als spezifische Mittel zur Heilung von Krankheiten bezeichnete. In manchen Ländern, wie z. B. Italien und Nordamerika, ist dieses Wort noch heute im Sinne unseres Begriffes für Nahrungsmittelchemie im allgemeinen gebräuchlich.

hierbei um den Inbegriff aller Kenntnisse handelt, die notwendig sind, um bei der Zubereitung der Speisen (einschließlich der Getränke) *aus den Lebensmitteln den größtmöglichen Nutzen in bezug auf Nähr- und Genußwert herauszuwirtschaften.*

Damit sind auch die wichtigsten Unterscheidungsmerkmale der Bromatik gegenüber der Gastrosophie oder Gastronomie gekennzeichnet, welch letztere in erster Linie die Erziehung des Menschen zum Tafelgenuß bezwecken. Diese Erziehung erstreckt sich auf die Verfeinerung der Kochkunst, die Zusammenstellung der Speisen mit passenden Getränken zu Mahlzeiten und Gastmählern, die Kunst zu essen und die Würdigung der Speisen und Getränke nach bestimmten Grundsätzen (Feinschmeckerei). Auf die Erhaltung des Nährwertes bei der Zubereitung der Lebensmittel wird dabei weniger Wert gelegt, um so mehr aber auf die Steigerung des Genußwertes, die leider nur zu leicht auf die Abwege der Überfeinerung der Kochkunst und zur Schlemmerei führt, wobei die Eigenart der Lebensmittel vielfach zerstört wird. Man denke nur an die überwürzten Tunken und Gehäcksel, die bei vielen Gastmählern eine große Rolle spielen und einem unverdorbenen Gaumen ein Greuel sind. Dabei wird durch Seltsamkeit, übertriebenen Wechsel und Mannigfaltigkeit der Gerichte die Eßlust angeregt und durch allerlei Künste der Verdauung nachgeholfen. Die wirtschaftlichen Gesichtspunkte kommen um so weniger in Frage, als die Pflege der Gastronomie und Gastrosophie im allgemeinen in den Händen wohlhabender oder reicher Leute liegt.

Demgegenüber soll die Bromatik in erster Linie der Volksernährung dienen. Den breiten Volksschichten soll mit ihrer Hilfe die Möglichkeit geboten werden, sich mit möglichst geringen Geldmitteln nahr- und schmackhaft zu beköstigen, sei es im Einzelhaushalt, im Gasthaus oder in Volksküchen und Speiseanstalten aller Art. *Der Bromatik kommt infolgedessen jetzt in Deutschland bei dem durch den Weltkrieg verursachten Mangel an Lebensmitteln und bei der auf allen Gebieten des Erwerbslebens gebotenen Sparsamkeit erhöhte Bedeutung zu.* Das wird sich auch nach dem Kriege während der sogenannten Übergangswirtschaft nicht wesentlich ändern und, selbst wenn später

wieder bessere Zustände eintreten, wird es Aufgabe der sozialen Fürsorge bleiben, für billige, nahr- und schmackhafte Beköstigung der breiten Volksschichten Sorge zu tragen. Dabei müssen die einheimischen pflanzlichen und tierischen Erzeugnisse viel ausgiebiger als früher zur Ernährung herangezogen werden.

2. Ziele und Aufgaben der Bromatik.

Wie oben ausgeführt wurde, hat als leitender Gesichtspunkt bei der Zubereitung der Speisen zu gelten, daß aus den Lebensmitteln für den Menschen der größtmögliche Nutzen in bezug auf Nähr- und Genußwert herausgewirtschaftet wird. Es müssen demnach folgende Aufgaben gelöst werden:

1. Die in den Lebensmitteln enthaltenen Nährstoffe, einschließlich der Salze, sind möglichst zu erhalten.

2. Die in den Lebensmitteln enthaltenen Geschmack- und Geruchstoffe (Würz- und Anregungstoffe) sind nicht nur zu erhalten, sondern sie müssen möglichst entwickelt und vervollkommnet werden. Die Eigenart des Geschmackes der Lebensmittel soll bei der Zubereitung tunlichst erhalten bleiben.

Bei der Zubereitung von Speisen aus Lebensmitteln, die nur wenige oder keine derartigen Stoffe enthalten, sind geeignete Würz- und Anregungstoffe zuzusetzen.

3. Die Speisen müssen in einer den menschlichen Sinnen wohlgefälligen Form angerichtet werden.

Für die Erregung des Appetits, d. h. der Lust zu essen, für die Bekömmlichkeit der Speisen und ihre Ausnützung im menschlichen Körper kommen noch andere Gesichtspunkte in Betracht, die eigentlich nicht in das Gebiet der Bromatik, sondern in die allgemeine Ernährungslehre gehören, die jedoch aus Zweckmäßigkeitsgründen hier mit berücksichtigt werden sollen. Dahin gehören die Speisenfolge, die Abwechslung des Küchenzettels, die äußeren Umstände beim Verzehren der Speisen (Stimmungen, Gemütsbewegungen, Einrichtung des Speiseraumes, Tischgesellschaft usw.). Schon im Altertum legte man auf die Verzierung der Speisen, auf schöne Formen der Eß- und Trinkgeräte, den Schmuck der Tafel und Tafelmusik großen Wert. Der berühmte Ausspruch des Horaz: „Vermische Nützlichkeit mit Anmut!“ bezieht sich nach K. F. von Rumohr auf die Kochkunst. Auf die Bedeutung solcher Fak-

24*

toren hat auch Carl von Voit in seinem Handbuch der Physiologie des allgemeinen Stoffwechsels und der Ernährung (Leipzig, F. C. W. Vogel, 1881) hingewiesen, und nach den in neuerer Zeit ausgeführten exakten Experimentaluntersuchungen, von denen nur diejenigen von J. P. Pawlow genannt seien, spielen diese in den breiten Volksschichten viel zu wenig beachteten Nebenumstände bei der menschlichen Ernährung sogar eine sehr wichtige Rolle[1]).

Die Bromatik bedarf zur Lösung ihrer Aufgaben aller Zweige der Lebensmittelchemie, von denen die wichtigsten sind:

1. Erforschung der chemischen Zusammensetzung der Lebensmittel.

2. Erforschung der chemischen und physikalisch-chemischen Vorgänge bei der Gewinnung, Aufbewahrung und Haltbarmachung (Konservierung) der Lebensmittel.

3. Erforschung der chemischen und physikalisch-chemischen Vorgänge bei der Zubereitung der Speisen.

4. Lösung der bei der Nährwertbestimmung von Lebensmitteln und Speisen in Betracht kommenden chemischen Fragen.

Die Bearbeitung solcher Fragen, wie z. B. der nach dem Einfluß der Zubereitungsweise der Speisen auf ihre Verdaulichkeit, die Untersuchungen über den Einfluß der Geschmacks- und Geruchstoffe auf die Absonderung und die Zusammensetzung der Verdauungssäfte liegt auf dem Gebiete der Biochemie.

Die Grundlage der Bromatik bildet die Erforschung der in den Lebensmitteln enthaltenen Nährstoffe und Geschmack- und Geruchstoffe (Würz- und Anregungsstoffe) sowie ihres chemischen und physikalisch-chemischen Verhaltens bei der Zubereitung der Speisen.

3. Die Erforschung der in den Lebensmitteln enthaltenen Nährstoffe und ihres chemischen und physikalisch-chemischen Verhaltens bei der Zubereitung der Speisen.

Bisher beschränkte man sich bei der chemischen Analyse der Lebensmittel im allgemeinen auf die Bestimmung weniger

[1]) Vgl. u. a. N. Zuntz, Ernährung und Nahrungsmittel. Leipzig, B. G. Teubner, 1918. — Emil Abderhalden, Die Grundlagen unserer Ernährung. Berlin, Julius Springer, 1917.

Hauptgruppen der Eiweißstoffe, Fette und Kohlenhydrate. Es ist das große Verdienst von J. König, daß er alles, was auf diesem Gebiete im Laufe der Zeit geleistet worden ist, in seinem klassischen Werke „Chemische Zusammensetzung der menschlichen Nahrungs- und Genußmittel", dessen letzter Band in diesen Tagen erschienen ist, gesammelt und übersichtlich zur Darstellung gebracht hat. An Stelle dieser Bauschanalyse muß künftig eine ins einzelne gehende chemische Untersuchung der Bestandteile der Lebensmittel, ihrer „feineren intimeren Zusammensetzung" (M. Rubner) treten. Dazu gehört in erster Linie die qualitative und quantitative Trennung der Stickstoffverbindungen. So sind wir z. B. über die Chemie dieser Stoffe, die außer Casein, Albumin, Globulin in der Milch vorhanden sind, ganz ungenügend unterrichtet, und es muß in systematischer Weise eine Fülle von Arbeit geleistet werden, ehe wir wissen, welche Stickstoffverbindungen und wie viel von ihnen, insbesondere Kreatin, Kreatinin, Purinbasen, Aminosäuren, Peptide usw. in der Milch der verschiedenen Tierarten und unter verschiedenen Bedingungen der Lactation und Fütterung vorhanden sind. Beim Fleisch müssen diese Untersuchungen auf die einzelnen Schlachttiergattungen, auf Lebensalter, Fütterungsweise und Ernährungszustand der Schlachttiere ausgedehnt, und es muß erforscht werden, wie diese Stickstoffverbindungen sich beim Reifen (Altschlachtenwerden) des Fleisches qualitativ und quantitativ ändern. Bei den Fettstoffen ist zu untersuchen, welche Fettsäuren in den einzelnen Pflanzen- und Tierfetten enthalten sind, in welcher Verbindungsform (einfache und gemischte Glyceride) sie vorliegen, und welche Veränderungen die Rohfette bei der Verarbeitung auf Speisefette sowie bei der sogenannten Fetthärtung erleiden. Die Vorgänge beim Ranzig- und Talgigwerden der Öle und Fette sind noch in ganz unbefriedigender Weise erforscht. Andere Fragen betreffen das große Gebiet der in den Lebensmitteln enthaltenen Kohlenhydrate, namentlich der Zuckerarten und zuckerartigen Stoffe, sowie bei pflanzlicher Herkunft die nähere Erforschung der unter dem Sammelbegriff „Cellulose" zusammengefaßten Stoffe. Hierauf hat auch M. Rubner neuerdings hingewiesen. Bei der Milch bleibt u. a. aufzuklären, was es mit der oft behaupteten und ebensó oft bestrittenen Gegenwart anderer Kohlenhydrate außer dem Milchzucker auf

sich hat. Wichtige Fragen betreffen ferner die organischen Phosphorverbindungen und die in neuerer Zeit zu so großer Bedeutung gelangten Enzyme wie auch die von einzelnen Forschern als besondere Stoffklasse angesehenen sog. Vitamine. Besondere Aufmerksamkeit wird man schließlich gewissen, nur in Spuren auftretenden Bestandteilen der Lebensmittel zuwenden müssen. Es ist insbesondere zu prüfen, ob diese Stoffe katalytische Wirkungen auslösen, die bei der Zubereitung der Speisen oder bei ihrer Assimilation im menschlichen Körper Bedeutung haben. Derartige Einflüsse spurenhafter Beimengungen sind auf anderen Gebieten der Biochemie bereits nachgewiesen, so von C. Neuberg[1]). Auf die große Bedeutung der „Begleitstoffe", die neben den eigentlichen Nährstoffen und neben den Genußstoffen in den Lebensmitteln enthalten sind, hat M. Rubner in einer kürzlich erschienenen Abhandlung „Über die Verdaulichkeitsverhältnisse unserer Nahrungsmittel"[2]) aufmerksam gemacht. Danach ist der Verdaulichkeitsgrad der Speisen von der besonderen Eigenart der „Begleitstoffe", die wir bisher nicht näher beachtet haben, wesentlich abhängig.

Im Anschluß an diese Forschungsarbeiten, die gleichsam erst eine genauere „chemische Topographie" der Lebensmittel liefern sollen, müssen eingehende Untersuchungen über die chemischen und physikalisch-chemischen Veränderungen der Lebensmittel und ihrer Einzelbestandteile bei der Zubereitung der Speisen angestellt werden. Letztere umfaßt nicht nur deren Herstellung, sondern auch die Erhaltung und Anrichtung der Speisen. Von den wichtigsten Maßnahmen bei der Herstellung der Speisen ohne Erhitzen seien genannt: Reifenlassen durch Abhängen (Fleisch von Schlachttieren, Wildpret) oder Eingraben in die Erde (Wildpret), Wässern (gesalzener Hering), Quellen (Erbsen, Graupen, Stockfisch), Beizen (Wildpret und anderes Fleisch), Gefrierenlassen (Winterkohl, Speiseeis). Bei der Herstellung der Speisen durch Erhitzen kommen hauptsächlich in Betracht: Brühen oder Blanchieren (Gemüse), Dämpfen (Kartoffeln, Fische, Fleisch), Kochen (Fleisch, Gemüse), Braten, d. h. Erhitzen unter Zusatz von Fett, sofern die Lebensmittel solches

---

[1]) Diese Zeitschr. 88, 115, 1918.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 47 vom 25. November 1918.

nicht in genügender Menge besitzen, mit möglichster Erhaltung des eigenen Saftes (Fleisch, Fische), Rösten, d. h. Erhitzen bis zur weitgehenden Austrocknung und bis zum Entstehen charakteristisch schmeckender Röstprodukte (Brot, Kartoffeln, Kastanien), Backen (Brot, Kuchen, Leberkäse, Pasteten), Schmoren und Dünsten, d. h. Verbindungen von Kochen und Braten, wobei die Luft abgeschlossen wird.

Nach diesen chemischen und physikalisch-chemischen Untersuchungen bzw. Hand in Hand mit ihnen sind ferner biochemische Untersuchungen über den Einfluß der Zubereitungsarten der Speisen auf deren Verhalten zu den Verdauungsenzymen anzustellen. Hierbei sind sowohl Versuche im chemischen Laboratorium (in vitro) mit künstlichen und natürlichen Verdauungssäften, wie auch solche an Menschen und Tieren anzustellen. Zur Entscheidung der Frage, welche Zubereitungsarten den Vorzug verdienen, muß das Ausnützungsverhältnis (der Ausnützungsgrad) bestimmt werden.

Gewinnt man auf diese Weise einen genaueren Einblick in die chemische Zusammensetzung, Statik und Dynamik der Lebensmittel und der daraus hergestellten Speisen, so wird sich darauf auch ein sichereres Urteil über ihren Nährwert aufbauen lassen als bisher. Diese Frage muß weiterhin durch calorimetrische Bestimmungen ihrer Lösung entgegengeführt werden, wobei außer der direkten Bestimmung des Energiegehaltes durch Verbrennen in der calorimetrischen Bombe die auf die chemische Analyse begründete Calorimetrie zu berücksichtigen ist. Schließlich müssen auch die Grundlagen zur Ermittlung des Nährwertes der in den Haushaltungen, Gasthäusern, Volksküchen und Speiseanstalten verabreichten Kostsätze erweitert und gefestigt werden.

4. Die Erforschung der in den Lebensmitteln enthaltenen Geschmack- und Geruchstoffe (Würz- und Anregungstoffe) und ihres chemischen und physikalisch-chemischen Verhaltens bei der Zubereitung der Speisen.

Trotzdem man schon vor langer Zeit erkannt hat, daß man bei der menschlichen Nahrung zwischen Nährstoffen und Würzstoffen unterscheiden muß, und obwohl über die Bedeutung

der ersteren kein Zweifel mehr herrscht, ist heute noch vielfach die Meinung verbreitet, daß die Würz- und Anregungsstoffe nur eine untergeordnete Rolle bei der menschlichen Ernährung spielen. Demgegenüber kann nicht genug betont werden, daß die eigentlichen Nährstoffe: Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate erst in Verbindung mit Würzstoffen, die den Appetit erwecken und die Verdauungsdrüsen des Körpers zur Tätigkeit anregen, brauchbare Speisen werden. Eine eintönige, reizlose Kost wird — das kann man vielfach in Volksküchen, Erziehungsanstalten und Gefängnissen beobachten —, auch wenn sie die zur Bestreitung des Lebensunterhaltes erforderlichen Nährstoffe in reichlicher Menge enthält, auf die Dauer von den Menschen zurückgewiesen. Der Widerwille dagegen wird schließlich so groß, daß die betreffenden Personen die Speisen wieder erbrechen und lieber hungern, als diese Zwangskost genießen. Sehr anschaulich hat der Begründer der modernen Ernährungsphysiologie Carl von Voit die Bedeutung der Würzstoffe in seinem vorgenannten Handbuch der Physiologie geschildert:

„Neben den angegebenen Nahrungsstoffen genießen die Tiere und Menschen in dem Futter und in den Speisen noch eine große Anzahl anderer, meist nur in sehr geringer Menge vorkommender Stoffe, die sie wohlschmeckend und genießbar machen, aber keine Bedeutung als Nahrungsstoffe besitzen, da sie keinen direkten Einfluß auf die Stoffzersetzungen im Körper ausüben und mit der Erhaltung des stofflichen Bestandes des Leibes nichts zu tun haben. Diese Stoffe nennen wir die Würzmittel oder Genußmittel; sie haben eine ganz andere, aber nicht weniger wichtige Aufgabe bei der Ernährung zu erfüllen wie die Nahrungsstoffe und sind für die Herstellung einer Nahrung ebenso nötig wie letztere. Nach den bis jetzt gemachten Auseinandersetzungen sollte man glauben, ein Tier oder ein Mensch könnte sich mit einem Gemisch aus Eiweiß, Fett, Stärkemehl, Wasser und Aschebestandteilen, das alle Nahrungsstoffe in gehöriger Quantität darbietet, ernähren. Aber Tiere und Menschen würden ein solches Gemenge für gewöhnlich nicht verzehren, weil es geschmacklos ist und dabei sicherlich zugrunde gehen. Zur Aufnahme und Verdauung der Nahrung gehört mehr als ein einfaches Verschlucken der zur Erhaltung des Organismus nötigen Substanzen; wie jede Tätigkeit des Körpers muß auch das Geschäft der Aufnahme der Speise mit einer angenehmen Empfindung verknüpft sein."

„Die letzte Anforderung an eine richtige Nahrung ist die Zumischung von Genußmitteln. Nach diesen Prinzipien mischen wir die Nahrung aus den verschiedenartigsten Nahrungsstoffen und Nahrungsmitteln unter Zusatz von Genußmitteln zusammen. Die Kochkunst hat danach eine

wichtige Aufgabe. Sie hat nicht nur die Nahrungsstoffe in eine solche Mischung zu bringen, daß der Organismus sich dadurch auf die beste Weise stofflich erhält, sondern auch die Materialien für die Verdauung vorzubereiten und die mannigfachsten Genußmittel in richtiger Art und Folge hinzuzufügen, damit die Speisen mit Lust verzehrt werden und einen guten Ablauf der Vorgänge im Darm bewirken. Zu diesem Zwecke wird das Unverdauliche entfernt und das Brauchbare gehörig zubereitet, d. h. ihm eine Form und Beschaffenheit gegeben, daß es leicht durch die Verdauungssäfte angegriffen und daher die Zeit der Verdauungsarbeit abgekürzt und der Darm möglichst wenig belästigt wird. Diejenige wohlschmeckende Nahrung, die allen Anforderungen strenge genügt, d. h. die die für einen bestimmten Fall gerade erforderliche Quantität der einzelnen Nahrungsstoffe in richtiger Mischung zuführt und dabei den Körper so wenig als möglich belästigt und abnützt, ist für diesen Fall die richtige Nahrung oder das Ideal der Nahrung."

Während des Krieges haben die Würz- und Anregungsmittel eine ganz besondere Bedeutung erlangt. Wir können das gegenwärtige Ernährungsproblem dahin zusammenfassen, daß wir in Deutschland zur Zeit bei großer Sparsamkeit und gleichmäßiger Verteilung der Vorräte wohl genügende Mengen von Nährstoffen, z. B. in Brot, Mehl, Kartoffeln usw. haben, um den Hunger zu stillen. Das was sich uns, und besonders den Großstädtern in erster Linie sehr fühlbar macht, ist, abgesehen von dem sehr knapp zugemessenen Fett, der Mangel an Fleisch. Fleisch ist ein konzentriertes Nähr- und ausgezeichnetes Genußmittel, und je höher der Kulturzustand eines Volkes ist, um so größer pflegt der Fleischverbrauch zu sein. In Deutschland hatte er in der letzten Zeit vor dem Kriege einen hohen Stand erreicht. Vor 100 Jahren betrug daselbst, soweit sich dies feststellen läßt, der jährliche Fleischverbrauch, auf den Kopf der Bevölkerung gerechnet, ungefähr $12^1/_2$ kg, und in den letzten Jahren vor Ausbruch des Krieges war er im Durchschnitt auf etwa 56 kg (also auf mehr als 1 kg in der Woche), in den Großstädten aber noch wesentlich höher gestiegen, während er sich in England nicht über 48 kg, in Frankreich nicht über 34 kg und in Österreich-Ungarn nicht über 29 kg erhob. Die Folge davon ist, daß sich der Mangel an Fleisch jetzt besonders fühlbar macht. Wir haben allen Grund anzunehmen, daß es nicht nur der hohe Eiweißgehalt des Fleisches ist, den wir entbehren, sondern wir empfinden vor allem auch den Mangel des Fleisches als Träger der bei seiner Zubereitung

entstehenden Würz- und Genußstoffe, an die wir bei unserer täglichen Nahrung gewöhnt waren. Max Rubner sagt sehr treffend, daß der Mensch an nichts zäher festhält, als an seinen Gewohnheiten beim Essen und Trinken. Friedrich von Müller bringt dies in seiner ausgezeichneten Abhandlung „Die Ernährungsfrage im Kriege“ [1]) noch drastischer in folgender Weise zum Ausdruck: „Jeder Zwang, die Essensgewohnheiten zu ändern, wird als Eingriff in die heiligsten Menschenrechte empfunden und erregt Unzufriedenheit, namentlich in den Kreisen der Ungebildeten (Unerzogenen).“ Was haben wir hieraus zu schließen? Es müssen der Bevölkerung jetzt und in Zukunft als Ersatz für Fleisch andere Würz- und Genußmittel in genügender Menge geboten werden.

Hier erschließt sich der Bromatik ein reiches Arbeitsfeld. Sie hat die Aufgabe, Mittel und Wege ausfindig zu machen, damit jede Hausfrau und Köchin imstande ist, aus den Lebensmitteln und insbesondere den einheimischen Erzeugnissen bei mäßiger Verwendung von Fleisch oder auch ohne Fleisch schmackhafte und abwechselungsreiche Speisen zu bereiten und sie in eine Form zu bringen, damit sie gern genossen werden. Die Rückkehr zur gemischten Kost, bei der die pflanzlichen Lebensmittel und namentlich die Gemüse mehr zur Geltung kommen, erscheint nicht nur aus Sparsamkeitsgründen, sondern auch deshalb geboten, weil der gewohnheitsmäßige allzu reichliche Genuß von Fleisch zu Stoffwechselstörungen Anlaß geben oder bestehende nachteilig beeinflussen kann. Freilich erfordert es, wie u. a. J. Wortmann in einer sehr zeitgemäßen und lesenswerten Abhandlung: „Anregungen zur Schaffung einer deutschen Küche“ [2]) betont, viel mehr Können und Aufmerksamkeit, eine Gemüseart richtig, d. h. unter Ausnützung der in ihr enthaltenen Nährwerte, und dabei schmackhaft und bekömmlich, d. h. leicht verdaulich, zuzubereiten, als eine Fleischspeise.

Es ist sehr bedauerlich, daß die Chemiker, und namentlich die organischen Chemiker, die unsere Kenntnisse von der Zusammensetzung und den Eigenschaften mancher Stoffklassen

---

[1]) Wochenschr. „März“, **1916,** Heft 17 u. 18.

[2]) Geisenheimer Mitteilungen über Obst- und Gartenbau, **1915.**

wie z. B. der Farbstoffe, sowohl der in der Natur vorkommenden wie auch der künstlich hergestellten, mächtig gefördert haben, sich so wenig mit der Erforschung der Geschmackstoffe beschäftigt haben. Über die Geruchstoffe ist mehr gearbeitet worden. Meist sind es aber Geruchstoffe, die zum Zwecke ihrer Verwendung in der Parfümerie studiert wurden. Über die Riechstoffe der Lebensmittel liegen verhältnismäßig wenige Arbeiten vor. Im Interesse der Ernährung, und besonders der Volksernährung, muß mit allem Nachdruck darauf hingewiesen werden, wie notwendig wissenschaftliche Untersuchungen über die in den Lebensmitteln enthaltenen Geschmack- und Geruchstoffe (Würz- und Anregungstoffe) sind. Im Anschluß daran muß deren chemisches und physikalisch-chemisches Verhalten bei der Zubereitung der Speisen ermittelt und ferner untersucht werden, ob und welche Stoffe solcher Art hierbei neu erzeugt werden können. Es ist mit Sicherheit zu erwarten, daß sich aus den einfachsten und wohlfeilsten Lebensmitteln viel besser als bisher wohlschmeckende Speisen herstellen lassen, wenn man, je nach ihrer Eigenart, die in den Lebensmitteln enthaltenen Geschmack- nnd Geruchstoffe zur Entwicklung bringt, oder den Geschmack durch künstliche Zusätze verbessert.

Vielversprechende Versuche zur Herstellung solcher künstlicher Speisewürzen sind in neuerer Zeit, und besonders während des Krieges, gemacht worden, wobei als Ausgangsmaterial gewerbliche Nebenerzeugnisse pflanzlichen oder tierischen Ursprungs dienten, z. B. Abfälle der Molkereien, Schlachthöfe, Konservenfabriken, Brauereien usw. Besonders gut eignet sich hierzu die Bierhefe. Die daraus hergestellten Hefeextrakte sind dem Fleischextrakt im Geruch und Geschmack sehr ähnlich und lassen sich auch in derselben Weise verwenden. Welche Mengen von Abfallstoffen auf diese Weise für die menschliche Ernährung nutzbar gemacht werden können, geht daraus hervor, daß allein in München unter normalen Verhältnissen jährlich etwa 12000 Hektoliter Naßhefe anfallen, die ungefähr 85000 kg Hefeextrakt ergeben würden. Von einer wissenschaftlichen Bearbeitung dieser bisher meist nur empirisch ausgearbeiteten Herstellungsverfahren sind mannigfache Verbesserungen zu erwarten.

Aber man muß noch einen Schritt weiter gehen. Wir sind über die physiologisch-chemischen Vorgänge, auf denen das Zustandekommen der Geschmacks- und Geruchsempfindungen beruht, noch ganz unzureichend, ja wir müssen sagen, so gut wie gar nicht unterrichtet. Erst in neuerer Zeit sind von

amerikanischen Chemikern[1]) und vom Verfasser und seinen Mitarbeitern in der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie in München exakte Arbeiten ausgeführt worden, um die Beziehungen festzustellen zwischen der Konzentration (Wasserstoffion) und chemischen Konstitution verdünnter Säuren und der Stärke ihres sauren Geschmackes. Obwohl es sich hierbei um die uns durch die tägliche Erfahrung wohlbekannte saure Geschmacksempfindung und um einfache chemische Verbindungen handelt, ist es bisher nicht möglich gewesen, zu einer befriedigenden Erklärung der Versuchsergebnisse zu gelangen, und es muß voraussichtlich noch viel Arbeit aufgewendet werden, bevor wir uns über die physiologisch-chemische Wirkung auch nur der einfachsten Geschmackstoffe wie Säuren, Laugen, Salze, Süß- und Bitterstoffe, sowie der einfachsten Geruchstoffe Rechenschaft geben können. Erst dann dürfen wir daran gehen, die zusammengesetzten Geschmacks- und Geruchseindrücke zu analysieren, die wir beim Genuß einer Speise empfinden.

5. Nutzanwendung der Bromatik im Haushalt und in der Lebensmittelindustrie.

Die Lehre von der Zubereitung der Speisen nach wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Grundsätzen muß künftig viel mehr als bisher die Grundlage für die Kochlehrbücher bilden, sowohl diejenigen für gesunde Menschen (Kochbücher im landläufigen Sinne), wie auch für Kranke (diätetische Kochbücher).

Auf die geschichtliche Entwicklung der Kochkunst kann hier nicht eingegangen werden, so lehrreich und zweckmäßig dies schon deshalb wäre, weil dadurch gezeigt werden könnte, wie im Laufe der Jahrhunderte, ja Jahrtausende auf diesem Gebiete nur verhältnismäßig unbedeutende Fortschritte gemacht worden sind, und daß es auch hier nur einen Weg gibt, um aus dem Zustand roher Empirie herauszukommen: die exakte naturwissenschaftliche Forschung. Hierüber soll später an anderer Stelle ausführlich berichtet werden. Es sei nur erwähnt, daß schon bei den alten Griechen und Römern die Zubereitung der Speisen in ähnlicher Weise geschah wie jetzt bei uns. Später trat auch bei ihnen eine Überfeinerung der Kochkunst ein, die mit der Zunahme des Wohlstandes und Reichtumes und in Begleitung des manierierten Geschmacks in der Literatur und Kunst sich zu entwickeln pflegt. „Die römische

[1]) Th. W. Richards, L. Kahlenberg, A. A. Noyes u. a.

Küche war in der Tat schon, als Horaz (geb. 65, gest. 8 v. Chr.) schrieb, im Begriffe, die natürliche Bestimmung der eßbaren Dinge zu verkennen und überall in tote, übereinkömmliche Zurichtungen zu verfallen. Als aber Cölius Apicius um zwei Jahrhunderte später jenes Kochbuch verfertigte, welches allen modernen in der Form und Richtung zum Muster diente, da war bereits jegliche Spur von Würdigung der arthaften, jedem Nahrungsstoff eigentümlichen Güte verschwunden, da schien es der Gipfel der Kunst zu sein, den Charakter jeglicher Speise durch Mischung und Verarbeitung zu vernichten." „Mit dem römischen Reiche geriet auch die Kochkunst in Verfall, um erst mit dem Wiedererstehen der Künste und Wissenschaften im 15. Jahrhundert von neuem aufzublühen. Wie in den humanistischen Studien, so gingen die Italiener damals auch in der humansten aller Künste den übrigen Nationen mit gutem Beispiel voran: namentlich wußten sie ihren ausgeprägten Schönheitssinn auch auf diesem Gebiete zu betätigen. Schon nach Verlauf eines Jahrhunderts aber traten sie ihre Führerrolle an die Franzosen ab, die durch die Einführung der Fleischbrühe als Grundlage aller kulinarischen Operationen auf nassem Wege eine hochbedeutsame Umwälzung in der Kochkunst zustande brachten und sich bis heute an der Spitze der feinschmeckerischen Welt behauptet haben." (R. Habs.) Für die deutschen Kochbücher gilt mit wenigen Ausnahmen im wesentlichen auch heute noch das, was K. F. von Rumohr in seinem bereits erwähnten Buche „Geist der Kochkunst" (1822) sagt: „Diese Kochbücher nun, oder besser diese planlosen Anhäufungen von allerlei häufig höchst widersinnigen Vorschriften, haben sämtlich die Tendenz, die National- und Provinzialgerichte zu verdrängen, die doch stets in der Volks- und Landesart begründet und fast ohne Ausnahme schmackhaft und nahrsam sind. Die neueren deutschen Kochbücher sind leider meist bloße Nachäffungen der französischen, wie dies schon ihre barbarische, unnötigerweise durchaus französische Nomenklatur beweist. Man sondere nur einige brauchbare Anweisungen zu wahren Landes- und Volksgerichten aus, die man leicht aus dem Vaterlande des Schriftstellers, oder dieses aus jenen wird erkennen können, so bleibt aus den besten deutschen Kochbüchern nichts weiter übrig, als was man ungleich besser in jeder älteren französischen Anweisung zum Kochen auffinden wird. Die Franzosen sind, wenn nicht die ersten Erfinder, doch die Verbreiter aller Gehäcksel und Vermengungen. Wenn man diese liebt, so kehre man doch zur Quelle zurück, denn man wird sie dort noch immer reiner, einfacher und zweckmäßiger auffinden, als bei dem „Gesindel der Nachahmer"."

Von großer Bedeutung ist das, was von Rumohr hier über die Nationalgerichte sagt. Dieser Gedanke muß auch bei der jetzt geplanten Neugestaltung des Küchenwesens der Leitstern bleiben. Die Bromatik bildet die Grundlage für die Kochlehrbücher aller Völker; denn die zur menschlichen Ernährung dienenden pflanzlichen und tierischen Erzeugnisse enthalten auf der

ganzen Erde im allgemeinen dieselben Nährstoffgruppen: Kohlenhydrate, Eiweißstoffe und Fette, und die chemischen Veränderungen, die diese Stoffe bei der Zubereitung der Speisen erleiden, gehen überall nach denselben Gesetzmäßigkeiten vor sich. Die Verschiedenheit der Nationalküchen beruht darauf, daß sich die Zubereitung der Speisen nach der körperlichen und geistigen Beschaffenheit der Völker, ihrer Beschäftigung, ihren Gewohnheiten, sowie nach dem Klima richtet. Die Bewohner der südlicheren Gegenden leben hauptsächlich von Pflanzenkost, die viel Kohlenhydrate (besonders Stärkemehl) enthält und wenig gewürzreich ist[1]). In den nördlicheren Ländern dagegen wird die tierische Kost bevorzugt, die mehr Fett, Eiweiß und Würzstoffe enthält. Schon aus Sparsamkeitsrücksichten muß sich die Nationalküche im allgemeinen den pflanzlichen und tierischen Erzeugnissen des betreffenden Landstriches anpassen. Infolgedessen spielen hierbei die politischen Abgrenzungen der Länder eine geringere Rolle als die klimatischen Verhältnisse und die Bodenbeschaffenheit. Man kann daher, wie auch J. Wortmann hervorhebt, nicht von einer einheitlichen deutschen Nationalküche sprechen, weil zwischen Nord und Süd, Ost und West zu große Unterschiede bestehen. Als gemeinsames Ziel der einzelnen deutschen Volksküchen muß aber angestrebt werden, daß die Zubereitung der Speisen nach wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Grundsätzen erfolgt, und daß dabei aus den Lebensmitteln der größtmögliche Nutzen in bezug auf Nähr- und Genußwert herausgewirtschaftet wird. Dies ist um so notwendiger, als jetzt nach dem unglücklichen Ausgang des Krieges der Wiederaufbau unseres Wirtschaftslebens nur dann möglich ist, wenn in allen Bevölkerungskreisen der Wahlspruch befolgt wird: Arbeiten und Sparen!

Daneben wird es immer eine internationale Küche geben, und für diese wird in der nächsten Zukunft wahrscheinlich die

---

[1]) Eine interessante Ausnahme machen die Mexikaner mit ihren überaus stark gewürzten Speisen, die aber kennzeichnenderweise ganz vorwiegend aus Fleisch bestehen, entsprechend der großen Billigkeit, dieses Lebensmittels in ihrem Lande (vgl. J. Menschl, Eine kulinarische Weltreise, Leipzig 1913, Kommissionsverlag von Hachmeister und Thal, 1, 136 ff.).

französische Küche maßgebend bleiben. Da hierbei der Preis der Lebensmittel weniger in Frage kommt, können die pflanzlichen und tierischen Erzeugnisse der ganzen Erde zur Verwendung gelangen, und dies kann um so leichter geschehen, als durch die Vervollkommnung der Verkehrsmittel und der Haltbarmachung (Konservierung), insbesondere durch die Anwendung der Kälte, eine weitgehende Unabhängigkeit von Zeit und Ort ermöglicht wird.

Auch für die Zweige der Lebensmittelindustrie, die sich mit der Herstellung genußfertiger Lebensmittel, haltbar gemachter Speisen (Konserven), Keks, Schokolade, Kakao, Zuckerwaren befassen, ist die Bromatik von Bedeutung, da die Herstellung dieser Erzeugnisse nach denselben Grundsätzen erfolgen muß wie bei den Speisen.

Um weiten Kreisen der Bevölkerung diese Kenntnisse übermitteln zu können, muß eine Erweiterung des naturwissenschaftlichen Unterrichts in Volks- und Mittelschulen sowie in höheren Mädchenschulen (Pensionaten und Instituten) mit besonderer Berücksichtigung der Ernährungslehre vorgenommen werden. Die Einführung in die Grundsätze der Bromatik hat im hauswirtschaftlichen Pflichtunterricht (Fortbildungsschule) stattzufinden, der für die aus der Volksschule entlassenen Mädchen zunächst wenigstens in den Städten und in den Gemeinden mit stärkerer Fabrikbevölkerung einzurichten ist. Der praktische Unterricht in der Zubereitung der Speisen, womit eine Anleitung zur Beurteilung und Aufbewahrung der Lebensmittel sowie eine Unterweisung in den wichtigsten Grundsätzen der Ernährungslehre zu verbinden ist, muß in Fachschulen aller Art, einschließlich der Militärkochschulen, erfolgen [1]).

6. Die Ausführung der wissenschaftlichen Forschungsarbeiten auf dem Gebiete der Bromatik.

Die vielseitigen Aufgaben, die die Bromatik zu erfüllen hat, erfordern ein reiches Maß experimenteller Arbeit auf allen Gebieten der chemischen Wissenschaft, der anorganischen und organischen, der analytischen, physiologischen und physikalischen Chemie. Außerdem sind diese Arbeiten zum Teil so

---

[1]) Vgl. Theodor Paul, Wie können wir aus unseren Lebensmitteln besseren Nutzen ziehen? Einführung zu dem Buche von Dr. J. Roland, Unsere Lebensmittel, ihr Wesen, ihre Veränderungen und Konservierung. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig, 2. Aufl. 1917.

schwierig, daß sie die höchsten Anforderungen an das Wissen und Können der Forscher stellen, die sich ihnen widmen. Dies ist wohl auch mit die Ursache, warum dieses Forschungsgebiet bisher so vernachlässigt wurde. Die Nahrungsmittelchemiker haben sich mit diesen Fragen bisher nur wenig beschäftigt, da ihre Tätigkeit im wesentlichen mehr analytischer Natur und darauf gerichtet ist, die in den Verkehr gebrachten Lebensmittel darauf zu untersuchen, ob sie verdorben, nachgemacht oder verfälscht sind. Bei solcher Arbeit sind zwar vielfach Ergebnisse gezeitigt worden, die über dieses Ziel hinausgingen und unsere küchenchemischen Kenntnisse förderten. Die eigentliche Forschungstätigkeit auf dem Gebiete der Bromatik muß von Chemikern der verschiedenen Arbeitsrichtungen geleistet werden, die in ihrem Sonderfach besonders geschult und erfahren sind. Vorbildlich für solche Arbeiten sind die Untersuchungen von Emil Fischer über die Chemie der Zuckerarten und zuckerartigen Stoffe, sowie seine und E. Abderhaldens Forschungen über Eiweißstoffe. Richard Willstätter hat kürzlich ausgeführt, daß die Chemie der einfacheren organischen Stoffe, worunter etwa 200000 verschiedene Verbindungen verstanden werden, in den wesentlichen Zügen geschrieben ist. Die heutige Aufgabe der organischen Chemie liegt nach ihm in der Untersuchung der kompliziertesten Stoffe, also derjenigen, die schwierig zugänglich und schwierig zu erforschen sind. Die Bromatik bietet demnach für die organischen Chemiker nicht nur ein wissenschaftlich interessantes, sondern auch wirtschaftlich wichtiges Arbeitsfeld, und es wäre sehr erfreulich, wenn das Prognostikon in Erfüllung ginge, mit dem Edv. Hjelt seine geistvolle „Geschichte der organischen Chemie“[1]) abschließt. Die Antwort auf die dort aufgeworfene Frage: In welcher Richtung wird die weitere Entwicklung der organischen Chemie gehen? faßt er in die Worte zusammen: „Es ist vorauszusehen, daß die weitere Entwicklung der organischen Chemie nicht nur die Naturerkenntnis bereichern wird, sondern durch neue Entdeckungen und tiefere Einsichten auch künftig, vielleicht in noch höherem Grade als bis jetzt, die äußeren Lebensbedürfnisse des Menschen befriedigen

---

[1]) Braunschweig, F. Vieweg & Sohn, 1916.

wird. Sie dürfte auf zahlreichen äußeren kulturellen Gebieten umgestaltend wirken, daran kann, in Anbetracht der bis jetzt gewonnenen Resultate, nicht gezweifelt werden."

Nicht minder umfangreich und wichtig sind die Aufgaben, die auf physiologisch-chemischem Gebiete gelöst werden müssen und oben bereits angedeutet wurden. Zu diesen Forschungsarbeiten gehören z. B. noch Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung der Verdauungssäfte (Speichel, Magensaft, Bauchspeichel, Galle), deren Abscheidung durch die Geschmack- und Geruchstoffe der verschiedenen Speisen bewirkt wird, und die für die Assimilation von Wichtigkeit sind. Hier ist ein inniges Zusammenarbeiten von Medizin und Chemie ein unabweisliches Bedürfnis.

Die Erforschung der Gesetzmäßigkeiten, nach denen die Umwandlung der Lebensmittel bei ihrer Zubereitung vor sich geht, wobei die Stoffe entweder als chemische Verbindung erhalten bleiben oder eine Änderung in ihrem chemischen Aufbau erfahren können, und die Aufklärung der katalytischen Vorgänge bei der Enzymwirkung der Verdauungssäfte gehören zum großen Teil zu den Aufgaben der modernen physikalischen Chemie einschließlich der Kolloidchemie und Elektrochemie. Erfreulicherweise ist der Ausbau der physikalischen Chemie jetzt so weit gediehen, daß sie sich mit Vorteil zur Lösung von Aufgaben auf dem Gebiete der praktischen Lebensmittelchemie verwerten läßt, geradeso wie sie in der chemischen Technik umgestaltend gewirkt hat. Dort, wo diese Nutzanwendung bereits erfolgte, wie z. B. in der Weinchemie, in der Mineralwasserkunde, hat sie reiche Früchte getragen und unsere Kenntnisse vom Wesen des Weines und der Mineralwässer zum Teil in neue Bahnen gelenkt. Auch in der Gärungschemie sind schon recht erfreuliche Fortschritte zu verzeichnen. Es steht daher zu erwarten, daß auf dem Gebiete der Bromatik sich die Anwendung der modernen physikalisch-chemischen Lehren ebenfalls nutzbringend und fördernd erweisen wird.

Zur Lehre von der Wirkung der Salze.

Von

K. Spiro.

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. Els.)

(Eingegangen am 17. Januar 1919.)

Gelegentlich der Versuche über die oligodynamische Wirkung des Kupfers[1]) habe ich einige Beobachtungen gemacht, die zeigen, daß die Gegenwart von Neutralsalzen eine Reihe einfacher chemischer Reaktionen sehr wesentlich beeinflußt, und daß sich dabei dieselben Gesetzmäßigkeiten zeigen lassen, die zur Aufstellung der lyotropen Reihe geführt haben. Während der letzten Jahre ist es mir durch den Kriegsdienst nicht möglich gewesen, diese Versuche fortzusetzen, und da ich nicht weiß, ob ich in absehbarer Zeit dazu komme, sie zu vervollständigen, möchte ich sie in aller Kürze hiermit veröffentlichen, zumal, wie ich gesehen habe, von andern Gesichtspunkten aus hierher gehörige Beobachtungen auch von anderer Seite gemacht worden sind[2]).

Die Abhängigkeit einfacher Reaktionen des Kupfers von gleichzeitig vorhandenen anderen Ionen ergibt sich aus beifolgendem gekürzten Protokoll:

a) Kationen.

Versetzt man $CuSO_4$-Lösung a) mit Na_2SO_4, b) mit $MgSO_4$, so entsteht bei Zusatz von NaCNS in a) weißes Cuprorhodanür,

[1]) Münch. med. Wochenschr. 62, 1601; diese Zeitschr. **74**, 285.

[2]) Victor Schläpfet, Über die Lokalisation der Oxydationsprozesse in der Zelle und deren Beeinflussung durch Elektrolytenkombinationen. Internat. Zeitschr. f. physikal.-chem. Biolog. **3**, 1 bis 45. Zitiert nach einem Referat für Malys Jahresber. Die Benutzung der Literatur war mir bei Niederschrift dieser Arbeit aus äußeren Gründen unmöglich.

in b) **schwarzes** Cuprirhodanid. Metallisches Kupfer löst sich in H_2O_2-haltigem Wasser bei Gegenwart von $MgSO_4$ schwächer als bei Gegenwart von Na_2SO_4.

Fällung bei Zusatz von	$CuCl_2$	Cu-Acetat
KCNS	weiß, milchig	gelb, flockig
NaCNS	schwarz	weiß

Fällung bei Zusatz von	$CuSO_4 + NaCl$	$CuSO_4 + Na_2SO_4$
KCN	weiß, milchig	weiß, flockig
KJ	gelber Niederschlag, am deutlichsten beim Erwärmen	weiße Trübung
KCNS	schwarzer Niederschlag	dicke weiße Trübung

Am deutlichsten kann man den Unterschied zeigen, wenn man NaCNS-Lösung mit Kupfersalzen zusammenbringt; mit dem Acetat erhält man sofort eine weiße Fällung des Kupferrhodanürs, während beim $CuSO_4$ die entsprechende Fällung schwarz ist von Cuprirhodanid.

Ähnliche Verschiedenheiten durch die Anwesenheit verschiedener Ionen kann man auch beim **Quecksilber** feststellen:

Auf Zusatz von	$HgCl_2 + H_2O$	$HgCl_2$ + n-KCNS	$HgCl_2$ + n-KFl
NaOH	gelber Niederschlag	gelber Niederschlag, teilweise gelöst	starker Niederschlag, mehr rot, schnell absetzend
NH_3	weißer „	gelber Niederschlag	weißer Niederschlag
KJ	roter „	unverändert auch bei viel KJ; Neßlers Reaktion bleibt aus, NH_3-Nachweis gehindert	roter Niederschlag, Neßlers Reaktion verstärkt, NH_3-Nachweis eher gefördert
Na_2CO_3	rotbrauner „	klare Lösung	dunkelbrauner, stärkerer Niederschlag
$(NH_4)_2CO_3$ . . .	weißer „	kleine Trübung	weißer Niederschlag
H_2S	„ „	sofort schwarzer Niederschlag, im Überschuß mit schwarzer Farbe löslich	weißer Niederschlag
K_2CrO_4	schwarze Fällung	klare Lösung	stärkere Fällung
Zinnchlorür . .	weißer Niederschlag, allmählich schwarz	gelber Niederschlag, allmählich weiß	sofort schwarze metallische Ausscheidung

Die Ausfällung des Hg durch Cu geht bei Gegenwart von Fl′ schneller als bei Gegenwart von Wasser, dagegen gar nicht bei Gegenwart von CNS′.

Der Einfluß anwesender Anionen auf die Art der Fällung ist aber nicht allein bei den echten Metallen vorhanden, sondern auch bei den alkalischen Erden nachweisbar, speziell z. B. beim Magnesium. Ammoniumcarbonat fällt Magnesiumsulfat nur langsam, resp. erst beim Erwärmen, aber bei Gegenwart von Rhodan sofort und in der Kälte aus. Beim $MgCl_2$ ist der Unterschied nicht so deutlich zu sehen, da das $MgCl_2$ überhaupt schon an und für sich leichter gefällt wird als $MgSO_4$. Umgekehrt wie die Rhodanide verhalten sich die Fluoride. Man kann das am besten sehen am $MgCl_2$. Eine durch NaFl getrübte Lösung von $MgCl_2$ wird durch Ammoniumcarbonat nicht weiter getrübt, während die entsprechende Lösung in Wasser ohne Fluorid mit der entsprechenden Menge Ammoniumcarbonat versetzt, einen dicken Niederschlag gibt. $MgCl_2$ wird leichter durch Fl′ gefällt als $MgSO_4$. Magnesiumammoniumphosphat ist in einem sehr großen Überschuß von Citrat löslich.

Aus den oben angeführten Protokollen über die Fällung von Kupfer und Quecksilber ist ersichtlich, daß Unterschiede namentlich hervortreten bei solchen Reaktionen, bei denen es sich entweder um komplexe Bindungen oder um Oxydationen resp. Reduktionen handelt, z. B. bei der Umwandlung des Cupri- in das Cuprorhodanid resp. des Cupricyanid in das Cuprocyanid bzw. Cuprokaliumcyanid. Die Analogie mit den lyotropen Eigenschaften der Salze ist dabei so evident, daß darauf kaum besonders hingewiesen zu werden braucht.

Es ergab sich aber daraus die Fragestellung, ob nicht ganz allgemein die Gesetzmäßigkeit der lyotropen Reihe sich auch sonst bei der Oxydation zeige. Speziell wies darauf die leichte Reduzierbarkeit des Kupfers in essigsaurer Lösung hin, ähnliche Hinweise finden sich schon in der Literatur. So machte C. L. Alsberg[1]) darauf aufmerksam, daß ein großer Unterschied in dem Verhalten der Chloride und der anderen Salze bei der

---

[1]) Festschrift für Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1908.

Guajakreaktion bekannt ist, der dann von ihm noch genauer nachgewiesen worden ist, speziell für Cu, K, Na, Mg und Ni. Alsberg selbst führt das darauf zurück, „daß die Chloride und Bromide, die nur in Gegenwart von H_2O_2 bläuen, dies tun, weil das H_2O_2 aus ihnen Spuren Cl oder Br, eventuell Chlorsäure oder Bromsäure abspaltet".

Daß diese Erklärung von Alsberg nicht zutreffend sein kann, sondern daß hier andere und zwar allgemeine Gesetzmäßigkeiten, nämlich auch hier lyotrope Erscheinungen vorliegen, zeigen am besten die nachfolgenden Untersuchungen, die erstens dartun, daß die Differenzen auch erkennbar sind unter Bedingungen, unter denen eine Abspaltung von Cl resp. Br nicht möglich ist, und daß zweitens die Differenzen auch dort bestehen, z. B. zwischen Rhodanid bzw. Fluorid, wo die Theorie von Alsberg ohne weiteres nicht anwendbar ist. Alle Erscheinungen fügen sich vielmehr vollständig in die Erfahrungen bezüglich der lyotropen Reihe ein.

Versuche.

Die Salze werden immer in äquimolaren Lösungen (meist $^m/_1$) verwandt.

A. Oxydation von KJ an der Luft.

4,5 ccm 3,6 n-H_2SO_4 + 0,5 Salz + 3 Tropfen KJ-Stärke: bei NH_4Fl tritt die Blaufärbung sofort auf, dann folgt an 2. Stelle $Mg(NO_3)_2$. KCNS und NH_4CNS hindern vollständig, KCN wirkt auch stark hemmend (Spur Blaufärbung); es ergibt sich folgende Reihe:

Mg: $SO_4 > NO_3 > Cl$;
NH_4: $Fl > SO_4 > NO_3 > Br > Cl$ (CNS = farblos);
K: $Fl > NO_3 > Cl > CN$ (CNS = farblos);
Na: $SO_4 > Cl > Br$ (Fl farblos, nach 24 Std. Blaufärbung);
SO_4: $NH_4 > Mg > Na$ sind fast alle drei gleich stark gefärbt;
Fl: $NH_4 > K > Na$;
NO_3: $Li > Mg > K > NH_4$;
Cl: $K > Na > Mg > NH_4$;
Br: $NH_4 > Na$.

Die hemmende Wirkung des Cyanions ergibt sich auch aus folgendem Protokoll:

$Mg(NO_3)_2$ mol. +	H_2SO_4 3,46 n +	H_2O + 3 Tr. KJ-Stärke	Blaufärbung, Zeit
1,0	1,0	8,0	nach 1 Std.
1,0	2,0	7,0	„ 1 „
1,0	3,0	6,0	„ 40 Min.
1,0	4,0	5,0	„ 40 „
1,0	5,0	4,0	„ 40 „
1,0	6,0	3,0	„ 25 „
1,0	7,0	2,0	„ 25 „
1,0	8,0	1,0	„ 25 „
1,0	9,0	0,0	„ 10 „

$Mg(NO_3)_2$ mol. +	H_2SO_4 3,46 n +	$HCN\ ^n/_{10}$ +	H_2O + 2 Tr. KJ-Stärke	Blaufärbung, Zeit
1,0	1,0	0,5	7,5	nach 18 Std. noch farblos.
1,0	2,0	0,5	6,5	„ 18 „ „ „
1,0	3,0	0,5	5,5	„ 18 „ „ „
1,0	4,0	0,5	4,5	„ 18 „ „ „
1,0	5,0	0,5	3,5	„ 18 „ Spur Blaufärbung.
1,0	6,0	0,5	2,5	„ 18 „ Spur Blaufärbung.
1,0	7,0	0,5	1,5	„ 18 „ Blaufärbung.
1,0	8,0	0,5	0,5	„ 18 „ „

Die Adsorption von Jod an Stärke wird durch KCN nur in allergeringstem Maße verzögert.

B. Oxydation von KJ mit H_2O_2.

I. 3 ccm verd. H_2O_2-Lösung + 5 ccm $^m/_{10}$-$Mg(NO_3)_2$ + 2 ccm KJ $^m/_{10}$ = Gelbfärbung, Ausscheidung von Jod.

3 ccm verd. H_2O_2-Lösung + 5 ccm $^m/_{10}$-$MgSO_4$ + 2 ccm KJ $^m/_{10}$ = ungefärbt, erst auf Zusatz von Stärke Blaufärbung.

3 ccm verd. H_2O_2-Lösung + 5 ccm $^m/_{10}$-H_2O + 2 ccm KJ $^m/_{10}$ = klar, bei Zusatz von Stärke schwache Blaufärbung.

II. 1,0 ccm $^m/_{10}$-KJ-Stärke + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Glykokoll + 1,0 ccm $^m/_{10}$-Salzlösung + H_2O_2 (0,1 ccm Perhydrol : 100 ccm H_2O).

Zusatz von	H_2O	$MgSO_4$	$MgCL_2$	$Mg(NO_3)_2$	Na_2SO_4	NaCl	$NaNO_3$
0,1 H_2O_2	wie $Mg(NO_3)_2$-Probe	Spur	etwas mehr	blau	überall Spuren		
0,5 H_2O_2	wie $MgSO_4$-Probe	+	++	+++	++	+	++
1,0 H_2O_2	alle Proben gleich stark blau gefärbt, H_2O-Probe etwas schwächer			+++	++	+	++

Reihenfolge für die Anionen: Blaufärbung: $NO_3 > Cl > SO_4$, Hemmung also $SO_4 > Cl > NO_3$.

Reihenfolge für die Kationen: Mg > H_2O > Na, Hemmung also Na > Mg.

C. Oxydation von Indigo.

H_2O_2 $^n/_{100}$	+ Indigo-lösung	+ $MgSO_4$ ges.	+ H_2O + 1 Tr. $^n/_{100}$-$FeSO_4$	Entfärbung in Min.	Dieselbe Reihe mit NaCl, Entfärbung in Min.
1,0	1,0	0,2	0,8	14	4
1,0	1,0	0,4	0,6	16	7
1,0	1,0	0,6	0,4	16	11
1,0	1,0	0,8	0,2	nach 3 Std.	10
1,0	1,0	1,0	0,0	noch nicht entfärbt.	

Reihenfolge: Cl > SO_4.

D. Guajakreaktion.

Guajaklösung + Wasserstoffsuperoxyd; a) mit $MgSO_4$, b) mit Na_2SO_4: a) wird bei Zusatz von NaCNS blau, b) nicht.

Weitere Versuche ergeben für die Kationen die Reihe Mg > Na, für die Anionen die Reihe CNS > NO_3 > Cl > SO_4 > Oxal > Fl.

E. Reduzierende Wirkung des H_2O_2 auf $FeCl_3$ + K_3FeCy_6.

1. Salze hemmen deutlich, doch zeigen
2. Kationen keine deutliche Differenz, immerhin wirkt wohl $\overset{+}{Mg}$ etwas stärker als $\overset{+}{Na}$.
3. Anionen: deutliche Hemmung bei SO_4'', zwischen CN' und NO_3' keine erhebliche Differenz, bei längerer Dauer sieht man, daß die Hemmung durch Cl' stärker ist als die durch NO_3', wir haben also für die Blaufärbung bei längerer Dauer die Reihe NO_3' > Cl' > SO_4'', d. h. die Hemmung SO_4'' > Cl' > NO_3'.

F. Reduktion von Ammoniak-CuO durch Glucose.

Ammoniakalische Cu-Lösung + Glucose:

1. Entfärbung (Oxydation der Glucose, Reduktion des Cu). Die mit $NaNO_3$ versetzte Probe wird später farblos als die mit Na_2SO_4 versetzte.

2. Wiederfärbung der vorher entfärbten Lösung (Oxydation des Cu_2O an der Luft). Die mit $NaNO_3$-Lösung v. P. wird schneller und intensiver blau als die mit Na_2SO_4, nach Stunden ist der Unterschied noch zu sehen.

Sehr deutlich ist der verschiedene Einfluß der Anionen zu sehen bei einem Vergleich von NaCNS mit Na_2SO_4.

G. Reduktion von ammoniakalischer Silberoxydlösung durch Glucose.

Hemmung durch Salze in der Reihenfolge $Fl' > SO_4'' > Cl' > NO_3' > CNS'$.

1. 5 ccm $AgNO_3$ 1% + 2 ccm konz. NH_3 + 2 ccm NH_4NO_3 mol. + 1 ccm Glucose 20%, 4 Min. gekocht = Opalescenz, dann Trübung.

2. 5 ccm $AgNO_3$ 1% + 2 ccm konz. NH_3 + 2 ccm H_2O + 1 ccm Glucose 20%, 4 Min. gekocht = starker Silberspiegel.

3. 5 ccm $AgNO_3$ 1% + 2 ccm konz. NH_3 + 2 NH_4-Oxalat (mol.) + 1 ccm Glucose 20%, 4 Min. gekocht = deutliche Abscheidung.

Nach 10 Minuten Filtrat titriert:

In Probe 1 = 100,0% Ag		der ursprünglich
„ „ 2 = 83,7% „		vorhandenen
„ „ 3 = 94,6% „		Ag-Menge.

Nach 5 Stunden Filtrat titriert:

In Probe 1 = 98,5% Ag		der ursprünglich
„ „ 2 = 80,1% „		vorhandenen
„ „ 3 = 90,8% „		Ag-Menge.

H. Indophenol-Synthese.

Resultat der Versuche: Blaufärbung:

$Mg > NH_4 > H_2O > Na > K$.

$NaFl > NaCl > Na_2SO_4 > NaBr > NaNO_3 > H_2O > NaCNS$, d. h. die meisten Salze fördern die Oxydation, Rhodan hemmt. Bei längerem Stehen wird der Farbstoff ausgesalzen.

I. Katalasewirkung.

Die Untersuchung des Einflusses der Salze auf die Wirkung der Katalase war deswegen besonders interessant, weil über die Bedeutung dieses Fermentes die Ansichten sehr divergieren. Während man früher in ihm ein Oxydationsferment sah, neigt man neuerdings zur gegenteiligen Ansicht, da es das sauerstoffabgebende Mittel, das Wasserstoffsuperoxyd, zerstört. Im Sinne der neuesten Anschauungen über Oxydationen, der Darlegungen von H. Wieland[1]) ist das gegensätzliche und dabei im Wesen doch identische Verhalten von Katalase und Oxydationsfermenten in folgender Weise anschaulich zu machen: das Wasserstoffsuperoxyd kann dehydrogenisierend entweder auf einen Wasserstoffspender (Oxydandum), wie z. B. Jodwasserstoffsäure oder auf ein zweites Molekül Wasserstoffsuperoxyd wirken; in einem solchen Gemenge besteht also ein Gleichgewicht im Sinne folgenden Schemas:

$$\begin{array}{cccccccc} & \text{I} & & & & \text{II} & \\ O\vdots H & & OH & & OH & & H\vdots J \\ \vdots\,| & \longleftarrow & | & & | & \longrightarrow & \vdots\,| \\ O\vdots H & & OH & & OH & & H\vdots J \end{array}.$$

Die spontane nach bekannter Gesetzmäßigkeit verlaufende Reaktion I wird beschleunigt durch Katalase und Katalysatoren wie Palladium, Platin usw., ebenso Reaktion II durch oxydierende Fermente oder $FeSO_4$, $MnCl_2$ usw. (Man erhält natürlich ein ganz ähnliches Schema, wenn man annimmt, die Oxydation beruhe auf der Abspaltung atomistischen Sauerstoffs aus Wasserstoffsuperoxyd.)

Sowohl bei Reaktion I wie bei Reaktion II handelt es sich um dieselbe Art von chemischen Prozessen, nur mit differierenden Objekten der Dehydrogenisation (Oxydation). Aus letzteren erklärt sich die sogenannte „Spezifität", denn gerade für den Ablauf der Oxydationsprozesse ist kein absoluter Maßstab bekannt, keine absolute Reihenfolge, sondern je nach dem Wasserstoffspender (Oxydandum) muß der Wasserstoffzehrer (das Oxydans) gewählt, resp. ausgesucht, ausprobiert werden; wir kennen noch keine allgemeinen Gesetzmäßigkeiten für die

[1]) Berl. Ber. **46**, 3327, 1913.

Oxydationsvorgänge, sondern können nur spezielle Einzeltatsachen feststellen.

Wir können dementsprechend sagen: Reaktion I wird durch Katalase usw. erheblich mehr beschleunigt als Reaktion II, und umgekehrt durch oxydierende Fermente Reaktion II mehr als Reaktion I.

Die alte viel erörterte Streitfrage, ob die Katalase als ein oxydierendes Ferment anzusehen ist, wird durch solche dynamische Auffassung in einfacher Weise erledigt: wir können die Katalase als ein Ferment bezeichnen, das die wasserstoffzehrende (dehydrogenisierende resp. oxydierende) Wirkung des Wasserstoffsuperoxyds besonders gegenüber einem zweiten Molekül Wasserstoffsuperoxyd begünstigt. Die so erzielte Rückgewinnung atmosphärischen Sauerstoffs ist darum von Bedeutung, weil das Wasserstoffsuperoxyd im Sinne Wielands bei der Wirkung molekularen O_2 als dessen erstes Hydrierungsprodukt regelmäßig auftritt. Gerade bei Annahme der Wielandschen Anschauungen ergibt sich die besondere Wichtigkeit der Katalase, und damit erweist sich auch als zweckmäßig, daß, wie Battelli und Stern[1]) gefunden haben, „diejenigen Gewebe, die den größten Peroxydasegehalt besitzen, auch die größten Mengen Katalase enthalten". Wasserstoffsuperoxyd ist kein Nebenprodukt der Oxydation, sondern muß bei jeder Dehydration durch molekularen Sauerstoff entstehen.

Aus den Versuchen sei das nachfolgende Protokoll angeführt.

5 ccm mol. Salzlösung + 5 ccm H_2O_2 + 1 Tropfen Blut; 2 ccm davon nach 5 Minuten gegen $KMnO_4$ titriert (Titer der H_2O_2-Lösung 1 ccm = 36,5 ccm $^n/_{10}$-$KMnO_4$-Lösung):

H_2O	$MgSO_4$	$MgCl_2$	$Mg(NO_3)_2$	Na_2SO_4	$NaCl$	$NaNO_3$
14,25	12,2	27,58	35,1	13,1	20,55	28,85
Nach 24 Stunden titriert:						
6,4	8,2	15,95	34,7	7,9	10,1	19,4

Reihenfolge also: $SO_4 > Cl > NO_3$; $Na > Mg$.

Die Reihenfolge ist also genau umgekehrt wie bei der Wasserstoffsuperoxydwirkung auf KJ, ganz im Sinne der oben ausgesprochenen Gegensätzlichkeit von Oxydations- und Katalasewirkung.

---

[1]) Diese Zeitschr. 13, 84, 1908.

Auch aus den in der Literatur vorhandenen Zahlen kann man auf eine Hemmungsreihe schließen: $CNS > NO_3 > Cl > SO_4$ [1]).

Hierdurch wird auch ein patentiertes „Verfahren zum Bleichen von Faserstoffen mit alkalischen, Sauerstoff abgebenden Lösungen“ der deutschen Gold- und Silberscheideanstalt vorm. Roeßler in Frankfurt a. M. vom 21. II. 1913 aufgeklärt, in dem Magnesiumsalze zur Konservierung von Wasserstoffsuperoxydlösung verwendet werden.

Zusammenfassend läßt sich zunächst sagen, daß die verschiedenen Ionen, ebenso Kationen wie Anionen, auch auf solche Prozesse, an denen sie scheinbar nicht beteiligt sind, eine gesetzmäßige Einwirkung im Sinne der lyotropen Reihe haben. Dabei sieht man, wie das auch die obigen Protokolle zeigen, die nur eine gekürzte Auslese aus mannigfachen Versuchsreihen sind, daß die Reihenfolge nicht immer in demselben Sinne verläuft; die Begünstigung einer Oxydation kann durch Magnesiumsalze stärker als durch Natriumsalze erfolgen aber auch umgekehrt. Dies ist auch nicht wunderbar: denn jede Oxydation (Sauerstoffaufnahme) des einen Körpers bedeutet, wenn es sich nicht um Wirkung molekularen Sauerstoffs (z. B. aus Luft) handelt, für einen anderen Reduktion (Sauerstoffabgabe), es ist also in diesem Sinne oft willkürlich, ob wir einen Prozeß als Oxydations- oder als Reduktionsprozeß bezeichnen: z. B. die Wirkung ammoniakalischer Kupferoxydlösung auf Dextrose ist im Sinne der Dextrose Oxydation, im Sinne des Kupferoxyds Reduktion. Und wie sich eine absolute Reihenfolge der Oxydationsprozesse nicht aufstellen läßt, kann man dies ebensowenig für die Richtung der lyotropen Reihe tun.

Man wird diese vielmehr für jeden der im Organismus ablaufenden Prozesse gesondert feststellen müssen. Jedenfalls läßt sich aber, wie es für physikalisch-chemische Vorgänge, die Wasseraufnahme, Quellung, Emulsionierung [2]) usw. schon geschehen ist, auch für rein chemische Prozesse, z. B. Reduktion, Oxydation, Katalasewirkung eine gesetzmäßige Salzwirkung zeigen; und so ergibt sich, daß auch die anorganischen Be-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**, 340; **42**, 102; **44**, 544. Diese Zeitschr. **21**, 284. Arch. f. experim. Pathol. **44**, 51. Skand. Arch. **23**, 99.

[2]) Vgl. Festschrift für Madelung, S. 36. Tübingen 1916.

standteile des Milieus oder der Umwelt für den Ablauf der chemischen Prozesse ebenso wie außerhalb auch innerhalb des Organismus von Bedeutung sein müssen.

Vor 20 Jahren hat Bertrand[1]) zuerst das Vorkommen von Hilfssubstanzen bei Fermentwirkungen festgestellt, sogenannten Kofermenten, die kochbeständig, dialysierbar, in Wasser leicht löslich und durch Alkohol mehr oder weniger schwer fällbar sind. Die allgemeine Bedeutung dieser Kofermente hat erst neulich wieder O. Meyerhof[2]) dargetan, der ein für Atmungsprozesse wichtiges Koferment in allen von ihm untersuchten Organen (Leber, Niere, Lunge, Ovarien usw.) fand. Daß neben organischen auch anorganische Körper als Kofermente dienen können, geht schon aus älteren Erfahrungen an der Diastase hervor, bei der speziell Beobachtungen von J. Wohlgemuth[3]) vorliegen, die ich ganz im Sinne der lyotropen Reihe deuten möchte: Hemmung durch Fluorid, Phosphat, Oxalat und Acetat, Indifferenz bei Sulfat, Begünstigung durch Nitrat, Nitrit, Chlorid und Bromid. Kalium stärker als Natrium. In der Art, wie z. B. Mg-Salze [$Mg(NO_3)_2$] bei der Oxydation von H_2O_2 (Verzögerung der hemmenden Katalasewirkung und Förderung der oxydierenden Wirkung auf KJ) oder Rhodanide und Chloride bei der Guajakreaktion eingreifen, haben wir ein vollkommenes Analogon der Kofermentwirkung bei einfachen chemischen Prozessen, und zwar in einer Weise, daß wir nicht von einer rätselhaften mehr oder weniger „spezifischen", sondern von einer allgemeinen Salzwirkung zu sprechen berechtigt sind, deren Gesetzmäßigkeit in der lyotropen Reihe ihren Ausdruck findet.

Diese lyotrope Reihe ist zuerst von Franz Hofmeister klar erkannt worden, und da ergibt es sich von selbst, daß ich diese meine letzte Mitteilung aus dem nunmehr der Geschichte angehörenden physiologisch-chemischen Institut Straßburg nicht hinausgehen lassen möchte, ohne meines Lehrers zu gedenken und alles des Guten, was uns in mehr als 22 jähriger fruchtbarer Arbeit freundschaftlich verbunden hat.

---

[1]) Compt. rend. **124**, 1032, 1897.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **170**, 369, 1988.

[3]) Diese Zeitschr. **9**, 10, 1908; daselbst ältere Literatur.

Über „sterische Hinderung“ durch Kern-Methylgruppen.

Von

Wolfgang Heubner.

(Aus dem pharmakologischen Institut zu Göttingen.)

(Eingegangen am 11. Februar 1919.)

Erst jetzt nach Rückkehr aus dem Kriegsdienst stoße ich auf die interessante Abhandlung von O. Baudisch und F. Klaus[1]), in der sie ausführen, daß die den Chemikern schon länger bekannte reaktionshemmende Wirkung von para- und besonders orthoständigen Methylgruppen bei Anilinderivaten sich auch bei biochemischen Umsetzungen bemerkbar macht. Sie geben Beispiele von P. G. Unna und Paul Ehrlich und Benda über Färbung und Abtötung bakterieller Organismen.

Ich habe vor einiger Zeit an einer Reaktion des höheren Organismus eine Erscheinung beobachtet, die mir damals sehr rätselhaft erschien, die sich aber nun wenigstens als eingeordnet in eine allgemeinere Gesetzmäßigkeit, wenn auch keineswegs erklärt erweist. Es zeigte sich, daß o-o-Dimethylphenacetin an den gleichen Versuchstieren und in gleichen Dosen keinerlei Veränderung des Blutfarbstoffs hervorrief, bei denen Phenacetin starke Methämoglobinbildung setzte[2]). Eine Abschwächung im gleichen Sinne fand sich am o-o-Dimethylphenetidin und am o-p-Dimethylanilin, während die entsprechenden Chlorsubstitutionsprodukte eine mindestens ebenso starke Blutwirkung besaßen wie die nicht substituierten Produkte. Ich glaubte damals, meine Beobachtungen in dem Satz zusammenfassen zu dürfen: „Einführung zweier Methylgruppen in Anilinderivate,

---

[1]) Diese Zeitschr. 83, 6, 1917.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 239, 1913.

von denen eine zum Stickstoff orthoständig, die andere ortho- oder paraständig ist, drückt die Giftigkeit der Substanz, darunter die für den Blutfarbstoff stark herab.“ Nachdem ich durch die Publikation von Baudisch und Klaus auf die sogenannte „sterische Hinderung“ durch ortho- und paraständige Methylgruppen aufmerksam geworden bin, die zuerst E. Bamberger[1]) und später J. v. Braun[2]) beschrieben hat, möchte ich meine Beobachtungen auf die gleiche Ursache zurückführen.

Trifft dies zu, so ist damit ein Argument mehr für die von mir in der genannten Arbeit vertretene Auffassung gewonnen, daß die Anilinderivate im Tierkörper erst oxydiert werden müssen und zwar am Stickstoff (unter Umständen unter gleichzeitiger Chinonbildung), ehe sie dann ihrerseits den Blutfarbstoff zu Methämoglobin oxydieren. Die erste Reaktion, die Oxydation am Stickstoff, ist es also, die durch die Methylgruppen gehindert wird; der Methämoglobinbildner entsteht verlangsamt oder gar nicht im Tierkörper, genau so, wie nach Bamberger die Oxydation am Stickstoff im Reagensglas erschwert ist.

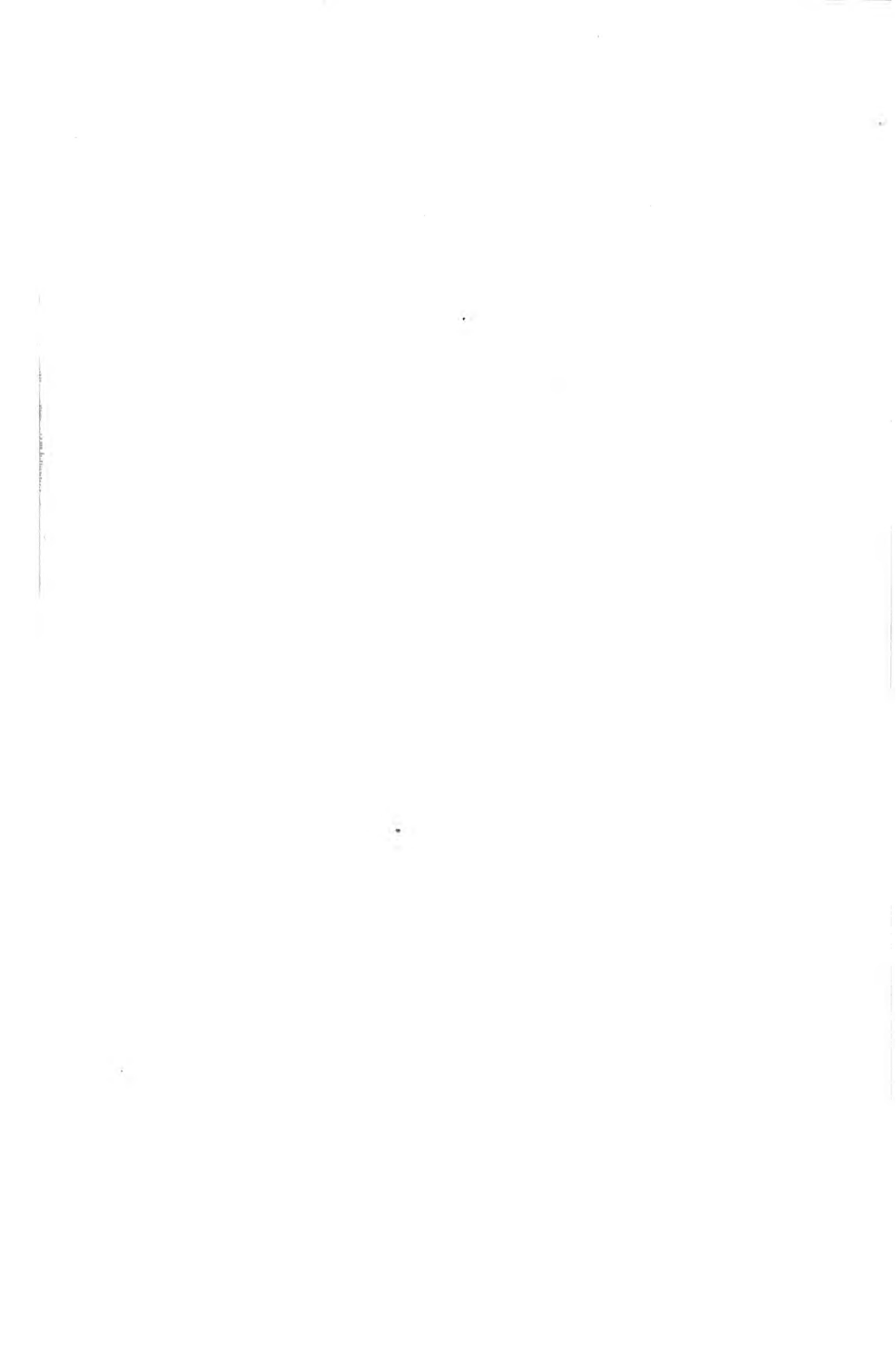
---

[1]) Berichte 39, 4285, 1906.
[2]) Berichte 49, 696, 1916.

Autorenverzeichnis.








Princeton University Library
32101 079671655

